

CAMILA ALVES DE LIMA

**PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE UM
NOVO SENSOR BASEADO EM NANOPARTÍCULAS DE
PRATA PARA A DETERMINAÇÃO DE POLUENTES
NITROAROMÁTICOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Doutora em Química.
Área de concentração: Química Analítica.
Orientador: Prof. Dr. Almir Spinelli

**Florianópolis
2016**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Lima, Camila Alves de

Preparação, caracterização e aplicação de um novo sensor baseado em nanopartículas de prata para a determinação de poluentes nitroaromáticos / Camila Alves de Lima ; orientador, Almir Spinelli - Florianópolis, SC, 2016. 147 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências

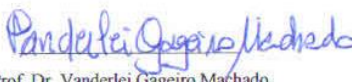
1. Química. 2. eletroanalítica. 3. nanopartículas de prata. 4. sensor. 5. pesticidas nitroaromaticos. I. Spinelli, Almir. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

Camila Alves de Lima

**PREPARAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE UM NOVO SENSOR
BASEADO EM NANOPARTÍCULAS DE PRATA PARA A DETERMINAÇÃO DE
POLUENTES NITROAROMÁTICOS**

Esta tese foi julgada e aprovada para a obtenção do título de Doutora em Química no Programa de
Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Santa Catarina

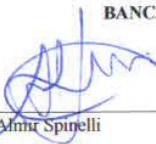
Florianópolis, 08 de abril de 2016



Prof. Dr. Vanderlei Gageiro Machado

Coordenador do Programa

BANCA EXAMINADORA



Dr. Afmir Spinelli
(Orientador)



Dr. César Ricardo Teixeira Tarley
(Relator – UEL/PR)



Dr. Suellen Cadorin Fernandes
(IFC-SC-Araquari)



Dr. Iolanda da Cruz Vieira
(DQ/UFSC)



Dr. Gustavo Amadeu Micke
(DQ/UFSC)



Dr. Tatiane de Andrade Maranhão
(DQ/UFSC)

Dedico este trabalho à duas pessoas que sempre me fizeram acreditar na realização dos meus sonhos e trabalharam muito para que eu pudesse concretizá-los.

Aos meus pais: Nelmi e Paulo

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Paulo e Nelmi, meus irmãos e cunhados, Paulinho, Taísa, Naihara e Júnior, e a todos os meus familiares, pelo incentivo, apoio, amor e por acreditarem em mim, sempre. Amo muito vocês!

A minha sobrinha, Maria Julia (Maju) que chegou para dar mais cor e alegria às nossas vidas.

Ao meu namorado e amigo, Orlando, que sempre esteve ao meu lado, me apoiando, dando forças nos momentos difíceis e também puxando a minha orelha quando era necessário.

Ao professor Dr. Almir Spinelli, pela orientação e ensinamentos que contribuíram muito para o meu crescimento e para realização deste trabalho.

Aos meus amados colegas e amigos do GEPEEA, que ao longo desses seis anos me ajudaram muito e tornaram-se a minha segunda família. Aos que ainda estão por aqui: Edinho, Jamille (Jamie), Lara, Fer, Schay, Giles, Cris, Vinícius e aos que já foram: Fernando, Paulo, Éder, Otoniel, Keliana, Gabriel, Jonas, Cacah (*in memoriam*). Foi muito bom contar com vocês, jamais esquecerei!

A todos os meus amigos de Guarapuava e também de Florianópolis.

A todos os integrantes da banca examinadora, por aceitarem fazer parte da mesma.

A todos os meus professores da Universidade Estadual do Centro-Oeste e da Universidade Federal de Santa Catarina, pelos ensinamentos repassados ao longo de todos esses anos, contribuindo, assim, para minha formação acadêmica.

Ao pessoal do Laboratório de Biossensores da UFSC pela importante colaboração na realização das medidas espectroscópicas.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFSC, pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela bolsa de doutorado concedida.

E, acima de tudo, o meu maior agradecimento, a Deus, pelo dom da vida, por ter permitido que eu chegasse até aqui.

Sem vocês esse trabalho não teria acontecido, muito obrigada!

LISTA DE TRABALHOS PUBLICADOS DURANTE O DOUTORADO (2012-2015)

❖ Artigos publicados em revista científica:

LIMA, C.A.; DA SILVA, P.S.; SPINELLI, A. Chitosan-stabilized silver nanoparticles for voltammetric detection of nitrocompounds. *Sensors and Actuators B*, 196, 39–45, 2014.

LIMA, C.A.; SANTANA, E.R.; PIOVESAN, J. V.; SPINELLI, A. Silver nanoparticle-modified electrode for the determination of nitro compound-containing pesticides. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. DOI: 10.1007/s00216-016-9367-5

❖ Resumos publicados em congressos:

LIMA, C. A.; PIOVESAN, J. V. ; SPINELLI, A. . Detecção de pesticidas nitroaromáticos utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de prata estabilizadas em quitosana. In: XX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2015, Uberlândia-MG. Anais do XX Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2015.

SANTANA, E. R. ; LIMA, C. A. ; PIOVESAN, J. V. ; SPINELLI, A. . Estudo eletroquímico do bisfenol A sobre um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de ouro e óxido de ferro. In: XXII Encontro de Química da Região Sul, 2015, Joinville-SC. Anais do XXII Encontro de Química da Região Sul, 2015.

LIMA, C. A.; PIOVESAN, J. V. ; SANTANA, E. R. ; SPINELLI, A. . Determinação eletroanalítica do organofosforado etil-paration em amostras de mel e alface. In: XXII Encontro de Química da Região Sul, 2015, Joinville-SC. Anais do XXII Encontro de Química da Região Sul, 2015.

LIMA, C. A.; SPINELLI, A. . Determinação eletroanalítica de pendimetalina utilizando um eletrodo modificado com nanopartículas de prata estabilizadas em quitosana. In: XXI Encontro de Química da Região Sul, 2014, Maringá. XXI Encontro de Química da Região Sul, 2014.

LIMA, C. A.; SILVA, P. S. ; SPINELLI, A. . Detecção de 4-nitrofenol utilizando um eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de prata estabilizadas em quitosana. In: XIX SIBEE - Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2013, Campos do Jordão-SP. XIX SIBEE - Simpósio Brasileiro de Eletroquímica e Eletroanalítica, 2013.

RESUMO

Este trabalho descreve o desenvolvimento de um eletrodo modificado com nanopartículas de prata (AgNPs), juntamente com a aplicação prática na detecção de poluentes nitroaromáticos. Uma dispersão coloidal contendo as AgNPs estabilizadas em quitosana foi utilizada para modificar a superfície de um eletrodo de carbono vítreo. A dispersão foi caracterizada pelas técnicas de espectroscopia ultravioleta-visível e microscopia eletrônica de transmissão e o dispositivo obtido, denominado nAg-quitosana/GCE, foi caracterizado por microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de impedância eletroquímica. Feito isso, o sensor foi então aplicado na detecção de compostos nitroaromáticos. Inicialmente, foi utilizado para investigar a redução eletroquímica do nitrocomposto 4-nitrofenol (4-NF). Em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0), o nitrocomposto apresentou um sinal de redução bem definido em -0,410 V, o qual foi utilizado como sinal analítico para o desenvolvimento da metodologia. Usando as condições otimizadas da voltametria de onda quadrada, a curva de calibração obtida apresentou um comportamento linear na faixa de concentração de 0,07 a 2,00 µmol L⁻¹ ($R^2 = 0,994$) com um limite de detecção (LD) de 0,070 µmol L⁻¹ e um limite de quantificação (LQ) de 0,286 µmol L⁻¹. Como o sensor respondeu bem para a redução do grupo nitro presente na molécula do 4-NF, foram desenvolvidas metodologias para determinação de dois pesticidas que apresentam o grupo nitro em sua estrutura química. A primeira foi desenvolvida para determinação do pesticida pendimetalina (PDM) e a segunda para o organofosforado etil-paration (EPT). Para ambos, foi utilizado tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) e a voltametria de redissolução adsorptiva no modo de onda quadrada. A curva de calibração para a PDM foi linear no intervalo de concentração de 0,07 a 2,00 µmol L⁻¹ ($R^2 = 0,998$), com um LD e LQ de 0,039 e 0,119 µmol L⁻¹, respectivamente. O método desenvolvido foi aplicado na determinação de PDM em amostras de água de torneira e mineral. Os ensaios de recuperação variaram de 95 – 100% para a amostra de água mineral, e 93 – 103% para a amostra de água de torneira, indicando ausência da interferência das matrizes. A metodologia proposta para determinação de EPT também apresentou bons resultados. A faixa linear de trabalho obtida pela curva de calibração foi de 0,04 a 8,00 µmol L⁻¹ ($R^2 = 0,993$), com LD e LQ de 0,04 e 0,92 µmol L⁻¹, respectivamente. A determinação do organofosforado foi realizada em amostras de alface e mel. Os ensaios

de recuperação do EPT na amostra de alface variaram de 98 – 101% e para a amostra de mel foram de 96 – 101%. Os resultados referentes a determinação obtidos pelo método comparativo para ambos os pesticidas corroboraram com os resultados obtidos utilizando o sensor proposto. Todos esses resultados confirmam que a utilização do sensor nAg-quitosana/GCE para determinação dos poluentes nitroaromáticos foi viável, fornecendo resultados precisos e exatos.

Palavras chave: Eletroanalítica. Nanopartículas de prata. 4-nitrofenol. Pendimetalina. Etil-paration.

ABSTRACT

This work describes the development of a modified electrode with silver nanoparticles (AgNPs) and the practical application for the detection of nitroaromatic pollutants. A colloidal dispersion containing stabilized AgNPs in chitosan was used to modify the glassy carbon electrode surface. The dispersion was characterized by techniques of UV-visible spectroscopy and transmission electron microscopy. The obtained device was named nAg-chitosan/GCE and it was characterized by scanning electron microscopy and electrochemical impedance spectroscopy. Then, the sensor was applied for detection of nitroaromatic compounds. Initially, the nAg-chitosan/GCE was used to investigate the reduction electrochemical of 4-nitrophenol (4-NF). The nitrocompound showed a reduction signal at -0.410 V in Britton-Robinson buffer 0.1 mol L^{-1} (pH 3.0) and it was used as analytical signal to develop methodology. Using the optimized conditions of the square wave voltammetry, the calibration curve has showed a linear behavior in the range from 0.07 to $2.00 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0.994$) with a limit of detection (LOD) of $0.070 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ and limit of quantification (LOQ) of $0.286 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$. As the sensor responded well to the nitro group reduction present in the 4-NF molecule, methods were developed for determination of two pesticides that have the nitro group in its chemical structure. The first methodology was developed for the determination of pesticide pendimethalin (PDM) and the second for the organophosphate ethyl parathion (EPT). For both, it was used Britton-Robinson buffer 0.1 mol L^{-1} (pH 4.0) and adsorptive stripping square wave voltammetry. The calibration curve was linear for PDM in the concentration range of 0.07 to $2.00 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0.998$) with a LOD and LOQ 0.039 and $0.119 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. The developed method was applied to determine PDM in mineral and tap water samples. Recovery assays ranged from 95-100% for the mineral water sample, and 93-103% for the tap water sample, indicating absence of interferences.

The proposed methodology for determination of EPT has also showed good results. The linear working range obtained by the calibration curve was 0.04 to $8.00 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0.993$), with LD and LQ of 0.04 and $0.92 \text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ respectively. The determination of organophosphate was performed in lettuce and honey samples. The EPT recovery tests on lettuce sample ranged from 98-101% and on honey sample 96 to 101%. The results of the determination obtained by the comparative method to

both pesticides corroborate to the results obtained using the proposed sensor. All these results confirm that the use of nAg-chitosan/GCE sensor for determination of nitroaromatic pollutants was feasible, providing precise and accurate results.

Keywords: Electroanalysis. Silver nanoparticles. 4-nitrophenol. Pendimethalin. Ethyl parathion.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mudança da coloração dependente do tamanho da prata coloidal: amarelo claro (A), laranja (B), violeta (C) e cinza (D).....	36
Figura 2. Espectros eletrônicos das soluções nos quatro estágios de agregação visualizados: solução amarela clara (a), cor de laranja (b), violeta (c) e cinza (d).....	37
Figura 3. Estruturas químicas da quitina e da quitosana.....	38
Figura 4. Estruturas químicas dos nitrofenóis: (A) 2-NF; (B) 3-NF e (C) 4-NF.....	46
Figura 5. Voltamograma cíclico obtido para o 2-NF em tampão fosfato salino (pH 5,0) utilizando um GCE modificado com nanopartículas de ouro estabilizadas no polímero poli(propileno)imina.....	48
Figura 6. Processos eletroquímicos envolvidos na determinação do 2-NF. (1) Reação eletroquímica irreversível de redução do 2-NF formando 2-(hidroxiamino)fenol. (2) Reação reversível de oxidação do grupo hidroxialamina (-NHOH) para o grupo nitroso (-NO).....	48
Figura 7. Estrutura química da PDM.....	51
Figura 8. Estrutura química geral para OPs.....	54
Figura 9. Consumo de pesticidas organofosforados em várias culturas nos Estados Unidos.....	55
Figura 10. Estrutura química do EPT.....	56
Figura 11. Esquema da preparação do nAg-quitosana/GCE.....	65
Figura 12. Coloração das soluções após a formação das AgNPs.....	68
Figura 13. (A) Espectros UV-vis (B) micrografia de TEM e (C) histograma de distribuição do tamanho das AgNPs.....	70
Figura 14. Imagens de SEM- FEG obtidas para: (A) superfície do GCE , (B) superfície do GCE modificado com quitosana, (C) superfície do GCE modificado com a dispersão de AgNPs estabilizadas em quitosana.	72
Figura 15. Espectroscopia de impedância eletroquímica para: (a) GCE; (b) quitosana/GCE e (c) nAg-quitosana/GCE.....	74
Figura 16. Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) GCE (b) quitosana/GCE (c) nAg-quitosana/GCE em tampão Britton-Robinson	

0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) na presença de 4-NF 0,1 mmol L⁻¹. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 76

Figura 17. Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes eletrólitos suporte: (a) tampão McIlvaine, (b) tampão ácido acético/acetato de sódio e (c) tampão Britton- Robinson para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de 4-NF 0,1 mmol L⁻¹. Todos os eletrólitos suporte estão na concentração de 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 77

Figura 18. Estudo do pH para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de 4-NF 0,1 mmol L⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹: Voltamogramas cíclicos obtidos em (A) (a) pH 2,0; (b) pH 3,0; (c) pH 4,0; (d) pH 5,0; (B) (e) pH 6; (f) pH 7,0; (g) pH 8,0; (h) pH 9,0. Variação do (C) E_{pr} ; (D) i_{pc} em função do pH. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 78

Figura 19. Estudo da velocidade de varredura para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de 4-NF 0,1 mmol L⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) : (A) Voltamogramas cíclicos nas velocidades: (a) 5 mV s^{-1} ; (b) 20 mV s^{-1} ; (c) 30 mV s^{-1} ; (d) 60 mV s^{-1} ; (e) 100 mV s^{-1} ; (f) 150 mV s^{-1} ; (g) 200 mV s^{-1} ; (h) 250 mV s^{-1} ; (B) gráfico E_{pr} vs. $\log \nu$; (C) gráfico $\log i_{pc}$ vs. $\log \nu$ 82

Figura 20. Dependência da corrente resultante com a variação da frequência para o 4-NF $1,50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) quando $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$. (A) gráfico de pontos (B) voltamogramas, onde $f =$ (a) = 10 Hz; (b) = 20 Hz; (c) = 30 Hz; (d) = 40 Hz; (e) = 50 Hz; (f) = 60 Hz; (g) = 70 Hz ; (h) = 80 Hz; (i) = 90 Hz; (j) = 100 Hz 84

Figura 21. Dependência da corrente resultante com a variação da amplitude para o 4-NF $1,50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) quando $f = 20 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$. (A) gráfico de pontos (B) voltamogramas, onde $a =$ (a) = 10 mV ; (b) = 20 mV; (c) = 30 mV; (d) = 40 mV; (e) = 50 mV; (f) = 60 mV; (g) = 70 mV ; (h) = 80 mV; (i) = 90 mV; (j) = 100 mV..... 86

Figura 22. Dependência da corrente resultante com a variação do incremento para o 4- NF $1,50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) quando $f = 20 \text{ Hz}$ e $a = 30 \text{ mV}$. (A) gráfico de pontos (B) voltamogramas, onde $\Delta E_s =$ (a) = 1 mV ; (b) = 2 mV; (c) = 2 mV; (d) = 2 mV; (e) = 5 mV 88

Figura 23. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos no sensor nAg- quitosana/GCE para 4-NF: (a) branco, (b) $0,07 \mu\text{mol L}^{-1}$, (c) $0,20 \mu\text{mol L}^{-1}$, (d) $0,40 \mu\text{mol L}^{-1}$, (e) $0,60 \mu\text{mol L}^{-1}$, (f) $0,80 \mu\text{mol L}^{-1}$, (g) $1,00 \mu\text{mol L}^{-1}$, (h) $1,20 \mu\text{mol L}^{-1}$, (i) $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$, (j) $1,60 \mu\text{mol L}^{-1}$, (k) $1,80 \mu\text{mol L}^{-1}$, (l) $2,00 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de calibração. Condições experimentais: $f = 20 \text{ Hz}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0)..... 90

Figura 24. Voltamogramas de onda quadrada obtidos para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de 4-NF: (A) $1,50 \mu\text{mol L}^{-1}$; (B) $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$, onde, (a) 2-NF (b) 3-NF e (c) 4-NF. Condições experimentais: tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0); $f = 20 \text{ Hz}$; $a = 30 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$ 93

Figura 25. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) GCE (b) quitosana/ GCE (c) nAg-quitosana/GCE em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) na presença de PDM $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. (B) Respostas de i_{pc} nos diferentes eletrodos. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$95

Figura 26. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) GCE (b) quitosana/GCE (c) nAg-quitosana/GCE em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) na presença de EPT $20 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Respostas de i_{pc} nos diferentes eletrodos. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 96

Figura 27. Estudo do eletrólito suporte: (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes eletrólitos suporte: (a) tampão McIlvaine, (b) tampão ácido acético/acetato de sódio e (c) tampão Britton-Robinson para o sensor nAg-quitosana/ GCE na presença de PDM $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. (B) Respostas de i_{pc} nos diferentes eletrólitos suporte. Todas os eletrólitos suporte estão na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 98

Figura 28. Estudo do eletrólito suporte: (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes eletrólitos suporte: (a) tampão McIlvaine (b) tampão Britton-Robinson (c) tampão ácido acético/acetato de sódio para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de EPT $20 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Respostas de i_{pc} nos diferentes eletrólitos suportes. Todos os eletrólitos suporte estão na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$99

Figura 29. Estudo do pH: (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de PDM $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em

tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (a) pH 2,0; (b) pH 3,0; (c) pH 4,0 e (d) pH 5,0. (B) Variação da i_{pc} e (C) do E_{pr} em função do pH do eletrólito suporte. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 102

Figura 30. Estudo do pH: (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de EPT 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (a) pH 2,0; (b) pH 3,0; (c) pH 4,0; (d) pH 5,0; (e) pH 6,0; (f) pH 7,0 e (g) pH 8,0 . (B) Variação da i_{pc} e (C) do E_{pr} em função do pH do eletrólito suporte. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 104

Figura 31. Estudo da variação da velocidade de varredura obtido para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de PDM 1,0 mmol L⁻¹ em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) : (A) Voltamogramas cíclicos , onde, $v =$ (a) 20 mV s^{-1} , (b) 40 mV s^{-1} , (c) 60 mV s^{-1} , (d) 80 mV s^{-1} , (e) 100 mV s^{-1} , (f) 150 mV s^{-1} , (g) 200 mV s^{-1} ; (B) gráfico E_{pr} vs. $\log v$; (C) gráfico $\log i$ vs. $\log v$106

Figura 32. Estudo da variação da velocidade de varredura obtido para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de EPT 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) : (A) Voltamogramas cíclicos , onde, $v =$ (a) 20 mV s^{-1} , (b) 40 mV s^{-1} , (c) 60 mV s^{-1} , (d) 80 mV s^{-1} , (e) 100 mV s^{-1} , (f) 150 mV s^{-1} , (g) 200 mV s^{-1} , (h) 300 mV s^{-1} ; (B) gráfico E_{pr} vs. $\log v$; (C) gráfico $\log i$ vs. $\log v$108

Figura 33. Estudo da influência dos parâmetros de pré-concentração: (A) E_{pc} (quando $t_{pc} = 10 \text{ s}$), (B) t_{pc} (quando, $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$), na i_{pc} da PDM 1,0 mmol L⁻¹, utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE, em tampão Britton-Robinson, 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0), $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos estão inseridos..... 110

Figura 34. Estudo da influência dos parâmetros de pré-concentração: (A) E_{pc} (quando $t_{pc} = 30 \text{ s}$), (B) t_{pc} (quando, $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$), na i_{pc} do EPT 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$, utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE, em tampão Britton-Robinson, 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0), $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos estão inseridos..... 111

Figura 35. Voltamogramas para (A) PDM 0,333 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 10 \text{ s}$), (B) EPT 0,333 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 60 \text{ s}$) em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) obtidos no sensor nAg-quitosana/GCE em: (a) LSV, (b) DPV, (c) SWV, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ 112

Figura 36. Dependência da corrente resultante com a variação de (A) frequência (quando: $a = 60$ mV e $\Delta E_s = 1$ mV), (B) amplitude (quando: $f = 50$ Hz e $\Delta E_s = 1$ mV), (C) incremento (quando: $f = 50$ Hz e $a = 50$ mV) para a PDM $0,333 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). Pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 10 \text{ s}$114

Figura 37. Dependência da corrente resultante com a variação de (A) frequência (quando: $a = 40$ mV e $\Delta E_s = 5$ mV), (B) amplitude (quando: $f = 60$ Hz e $\Delta E_s = 5$ mV), (C) incremento (quando: $f = 60$ Hz e $a = 70$ mV) para o EP $0,333 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). Pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 60 \text{ s}$116

Figura 38. Voltamogramas de onda quadrada obtidos no sensor nAg-quitosana/GCE para a PDM: (a) branco, (b) $0,07 \mu\text{mol L}^{-1}$, (c) $0,13 \mu\text{mol L}^{-1}$, (d) $0,20 \mu\text{mol L}^{-1}$, (e) $0,27 \mu\text{mol L}^{-1}$, (f) $0,33 \mu\text{mol L}^{-1}$, (g) $0,40 \mu\text{mol L}^{-1}$, (h) $0,47 \mu\text{mol L}^{-1}$, (i) $0,53 \mu\text{mol L}^{-1}$, (j) $0,67 \mu\text{mol L}^{-1}$, (k) $1,20 \mu\text{mol L}^{-1}$, (l) $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$, (m) $1,80 \mu\text{mol L}^{-1}$, (n) $2,00 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de calibração. Condições experimentais: $f = 50$ Hz, $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 4$ mV, tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 10 \text{ s}$ 118

Figura 39. Voltamogramas de onda quadrada obtidos no sensor nAg-quitosana/GCE para o EPT no (a) branco, (b) $0,04 \mu\text{mol L}^{-1}$, (c) $0,08 \mu\text{mol L}^{-1}$, (d) $0,16 \mu\text{mol L}^{-1}$, (e) $0,93 \mu\text{mol L}^{-1}$, (f) $1,66 \mu\text{mol L}^{-1}$, (g) $2,20 \mu\text{mol L}^{-1}$, (h) $2,80 \mu\text{mol L}^{-1}$, (i) $3,44 \mu\text{mol L}^{-1}$, (j) $4,06 \mu\text{mol L}^{-1}$, (k) $4,66 \mu\text{mol L}^{-1}$, (l) $5,33 \mu\text{mol L}^{-1}$, (m) $6,00 \mu\text{mol L}^{-1}$, (n) $6,66 \mu\text{mol L}^{-1}$, (o) $7,33 \mu\text{mol L}^{-1}$, (p) $8,00 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de calibração. Condições experimentais: $f = 70$ Hz, $a = 60$ mV, $\Delta E_s = 3$ mV, tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 60 \text{ s}$ 119

Figura 40. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos após: (a) branco, (b) adição de $100 \mu\text{L}$ da amostra de água mineral, (c-g) adições sucessivas de $100 \mu\text{L}$ da solução padrão de PDM $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição de padrão para amostra de água mineral e curva de calibração. Condições experimentais: $f = 50$ Hz, $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 4$ mV, tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 10 \text{ s}$ 122

Figura 41. Voltamogramas de onda quadrada obtidos após : (a) branco, (b) adição de $180 \mu\text{L}$ de amostra de água de torneira, (c-f) adições sucessivas de $100 \mu\text{L}$ da solução padrão de PDM $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. B) Curva

de adição de padrão para amostra de água de torneira e curva de calibração. Condições experimentais: $f = 50$ Hz, $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 4$ mV, tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 10 \text{ s}$ 123

Figura 42. (A) Espectros UV-vis para a solução de PDM (a) $6,25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; (b) $12,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; (c) $18,7 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; (d) $25 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; (e) $31 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; (f) $37 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; (g) $44 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; (h) $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; (B) Curva de calibração..... 126

Figura 43. (A) Espectros UV- vis para (a) 2 mL de amostra de água mineral (b-e) adições sucessivas de $30 \text{ } \mu\text{L}$ do padrão de PDM $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; (B) Curva de adição de padrão para amostra de água mineral; (C) Espectros UV-vis para (a) 2 mL de amostra de água de torneira (b-e) adições sucessivas de $30 \text{ } \mu\text{L}$ do padrão de PDM $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$; (D) Curva de adição de padrão para amostra de água de torneira 127

Figura 44. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos após: (a) branco, (b) adição de $100 \text{ } \mu\text{L}$ da amostra de alface, (c-g) adições sucessivas de $200 \text{ } \mu\text{L}$ da solução padrão de EPT $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição de padrão para amostra de alface e curva de calibração. Condições experimentais: $f = 70$ Hz, $a = 60$ mV, $\Delta E_s = 3$ mV, tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 60 \text{ s}$ 131

Figura 45. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos após: (a) branco, (b) adição de $50 \text{ } \mu\text{L}$ da amostra de mel, (c-g) adições sucessivas de $100 \text{ } \mu\text{L}$ da solução padrão de EPT $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição de padrão para amostra de mel e curva de calibração. Condições experimentais: $f = 70$ Hz, $a = 60$ mV, $\Delta E_s = 3$ mV, tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 60 \text{ s}$ 132

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Principais aplicações do biopolímero quitosana.....	40
Tabela 2. Sensores utilizando o AgNPs e outros materiais na detecção de compostos diversos.....	44
Tabela 3. Otimização dos parâmetros experimentais por SWV para análise de 4-NF utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE.....	89
Tabela 4. Características analíticas da curva de calibração do 4-NF..	92
Tabela 5. Características analíticas para a determinação de PDM e EPT usando o sensor nAg-quitosana/GCE.....	120
Tabela 6. Resultados obtidos para a quantificação da PDM na amostra de água mineral e água de torneira pelo método proposto utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE.....	124
Tabela 7. Estudos de recuperação pelo método de adição de padrão nas amostras de água mineral e água de torneira.....	124
Tabela 8. Determinação de PDM em água mineral e água de torneira.	130
Tabela 9. Determinação do EPT em alface e mel.....	133
Tabela 10. Estudos de recuperação pelo método de adição de padrão nas amostras de alface e mel.....	133

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2-NF – *orto*-nitrofenol

3-NF – *meta*-nitrofenol

4-NF – *para*-nitrofenol

ΔE_s – Incremento de potencial

a – Amplitude de pulso

a – Coeficiente angular

AA – Ácido ascórbico

Ads- SWV – Voltametria de redissolução adsortiva no modo de onda quadrada (Ads-SWV)

AgNPs – Nanopartículas de prata

AU – Ácido úrico

BDDE – Eletrodo de diamante dopado com boro (do inglês, *boron doped diamond electrode*)

CPE – Eletrodo de pasta de carbono (do inglês, *carbon paste electrode*)

CA – Cronoamperometria (do inglês, *chronoamperometry*)

CV – Voltametria cíclica (do inglês, *cyclic voltammetry*)

DA – Dopamina

DP – Desvio padrão

DPR – Desvio padrão relativo

DPV – Voltametria de pulso diferencial (do inglês, *differential pulse voltammetry*)

EIS – Espectroscopia de impedância eletroquímica (do inglês, *electrochemical impedance spectroscopy*)

E_{pr} – Potencial de pico de redução

EQMs – Eletrodos quimicamente modificados

EPT – Etil paration

f – Frequência de pulso

GCE – Eletrodo de carbono vítreo (do inglês, *glassy carbon electrode*)

GlcN – 2-amino-2-desoxi-D-glicose

GlcNAc – 2-acetamida-2-desoxi-D-glicose

i_{pc} – Corrente de pico catódico

ITO – Eletrodo de óxido de estanho dopado com índio (do inglês, *indium tin oxide*)

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

LSV – Voltametria de varredura linear (do inglês, *linear sweep voltammetry*)

OPs – Pesticidas organofosforados

PDM – Pendimetalina

RGO – Óxido de grafeno reduzido

R_{tc} – Resistência a transferência de carga

SEM-FEG – Microscopia eletrônica de varredura com campo de emissão (do inglês, *scanning electronic microscopy with field emission gun*)

MPT – Metil paration

MWCNT – Nanotubos de carbono de paredes múltiplas (do inglês, *multiple walled carbon nanotubes*)

nAg-quitosana – Nanopartículas de prata estabilizadas em quitosana

nAg-quitosana/GCE – Eletrodo de carbono vítreo modificado com nanopartículas de prata estabilizadas em quitosana

NPs – Nanopartículas

SPE – Eletrodo impresso (do inglês, *screen printed electrode*)

SWV – Voltametria de onda quadrada (do inglês, *square wave voltammetry*)

TEM – Microscopia eletrônica de transmissão (do inglês, *transmission electron microscopy*)

UV-vis – Espectroscopia ultravioleta-visível

v – Velocidade de varredura

SUMÁRIO	
CAPÍTULO 1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	33
1.1 Eletrodos quimicamente modificados.....	33
1.2 Nanopartículas de prata.....	35
1.3 Quitosana.....	38
<i>1.3.1 Utilização da quitosana para construção de sensores.....</i>	<i>41</i>
1.4 Utilização de nanopartículas de prata e quitosana na construção de sensores.....	43
1.5 Nitrofenóis.....	46
<i>1.5.1 Determinação eletroquímica de nitrofenóis.....</i>	<i>47</i>
1.6 Pesticida Pendimetalina.....	51
1.7 Pesticidas organofosforados.....	54
CAPÍTULO 2. OBJETIVOS.....	62
2.1 Objetivo geral.....	62
2.2 Objetivos específicos.....	62
CAPÍTULO 3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	63
3.1 Reagentes e soluções.....	63
3.2 Instrumentação.....	63
3.3 Síntese das nanopartículas de prata.....	64
3.4 Preparação do sensor nAg-quitosana/GCE.....	65
3.5 Medidas eletroquímicas.....	65
3.6 Preparação das amostras para as determinações.....	66
<i>3.6.1 Determinação pelo método eletroquímico.....</i>	<i>66</i>
<i>3.6.2 Determinação pelo método comparativo.....</i>	<i>67</i>
CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	68
4.1 Caracterização das nanopartículas de prata e caracterização morfológica e eletroquímica do sensor.....	68
4.2 Estudos com o 4-nitrofenol.....	74

4.2.1 Resposta eletroquímica do 4-NF sobre a superfície do nAg-quitosana/GCE74	
4.2.2 Influência do eletrólito suporte e do pH.....76	
4.2.3 Influência da velocidade de varredura.....80	
4.2.4 Detecção eletroanalítica do 4-NF.....83	
4.2.5 Otimização dos parâmetros de onda quadrada.....83	
4.2.6 Construção da curva de calibração e características analíticas.....89	
4.2.7 Aplicação eletroanalítica do sensor nAg-quitosana/GCE para a detecção de outros nitrocompostos.....92	
4.3 Estudos com a pendimetalina e etil paration.....94	
4.3.1 Resposta eletroquímica dos pesticidas sobre a superfície do nAg-quitosana/GCE.....94	
4.3.2 Seleção do eletrólito suporte.....97	
4.3.3 Estudo da variação do pH.....101	
4.3.4 Estudo da variação da velocidade de varredura.....105	
4.3.5 Adsorção dos pesticidas PDM E EPT na superfície do sensor nAg-quitosana/GCE.....109	
4.3.6 Seleção da técnica de trabalho.....111	
4.3.7 Otimização dos parâmetros de onda quadrada.....113	
4.3.8 Construção da curva de calibração e características analíticas.....117	
4.3.9 Aplicação analítica do sensor proposto.....120	
4.3.10 Determinação de PDM em amostras de água utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE.....120	
4.3.11 Determinação de PDM pelo método comparativo.....125	
4.3.12 Determinação de EPT em amostra de alface e mel utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE e UV-Vis.....130	
CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....134	
CAPÍTULO 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....135	

APRESENTAÇÃO

As técnicas eletroquímicas são amplamente utilizadas para a determinação dos mais diferentes tipos de compostos, por possuírem inúmeras vantagens como, baixo custo, rapidez das análises, alta sensibilidade, etc. Nos últimos anos, a miniaturização dos equipamentos foi um fator que aumentou ainda mais o interesse por essas técnicas, possibilitando que as determinações eletroquímicas possam, por exemplo, serem realizadas *in loco*.

Nessa área, a busca por sensores mais sensíveis e seletivos através da modificação da superfície de eletrodos convencionais, também apresenta um grande crescimento. Nota-se na literatura, que modificadores contendo nanopartículas (NPs), são bastante utilizados. Isso se deve ao fato das NPs apresentarem propriedades particularmente importantes em relação ao seu material em tamanho macroscópico.

Aliando as técnicas eletroanalíticas a um bom sensor eletroquímico, diversos tipos de compostos podem ser detectados, estudados e quantificados em diferentes tipos de amostras.

Há um interesse na determinação de pesticidas, por exemplo. Apesar dos pesticidas possuírem um efeito benéfico sobre a produção agrícola, sua utilização indiscriminada provoca graves problemas ambientais e também à saúde humana e animal.

Diante ao exposto, o presente trabalho pretende propor um novo sensor empregando um eletrodo de carbono vítreo (do inglês, *glassy carbon electrode* – GCE) modificado com nanopartículas de prata (AgNPs) estabilizadas em quitosana para determinação eletroanalítica de compostos nitroaromáticos, incluindo pesticidas.

A seguir, para fins de apresentação, esta tese foi dividida em seis capítulos. O primeiro capítulo versará sobre a fundamentação teórica, na qual há uma revisão bibliográfica sobre os temas de estudo. No capítulo dois serão apresentados o objetivo geral e os objetivos específicos. No terceiro, o procedimento experimental empregado no desenvolvimento deste trabalho. O quarto capítulo trará os resultados obtidos no desenvolvimento das metodologias eletroanalíticas desenvolvidas, bem como os resultados obtidos com o método comparativo. No quinto capítulo, as considerações finais, e por fim no capítulo sexto, as referências bibliográficas que foram utilizadas.

CAPÍTULO 1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

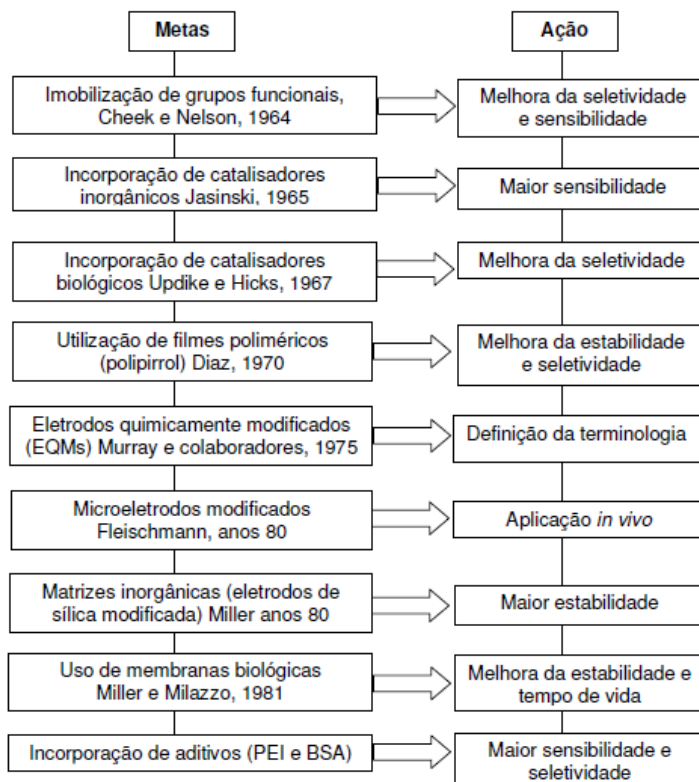
1.1 Eletrodos quimicamente modificados

A denominação “eletrodos quimicamente modificados” (EQMs) surgiu no início dos anos 70, e refere-se a modificar eletrodos com espécies quimicamente ativas imobilizadas na superfície destes dispositivos. Com essa imobilização, pode-se controlar as propriedades físico-químicas da interface eletrodo-solução, como por exemplo, melhorar a transferência eletrônica, aumentar a seletividade e sensibilidade, diminuir o potencial de trabalho, etc (COX, TESS et al. 1996).

O desenvolvimento dos EQMs consiste na modificação de um eletrodo base (substrato condutor) com um agente modificador. A escolha de um bom substrato é um aspecto importante. Deve-se escolher um substrato que apresente características eletroquímicas apropriadas e adequadas para o método selecionado de imobilização do modificador. Dentre os substratos convencionais mais utilizados para modificação, podemos destacar os eletrodos de ouro, platina, pasta de carbono (do inglês, *carbon paste electrode*– CPE) e GCE (PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002).

Pereira e colaboradores contruíram um esquema (Esquema 1) mostrando os primeiros trabalhos na área de modificação de eletrodos e como essas modificações de superfície melhoraram vários aspectos (sensibilidade, seletividade, estabilidade, etc.) quando comparadas às superfícies isentas de modificação (PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002).

Esquema 1. Linhas gerais do desenvolvimento dos eletrodos quimicamente modificados.



Fonte: Extraído de PEREIRA; SANTOS; KUBOTA, 2002 .

Hoje em dia, existem diversos tipos de materiais para modificação de eletrodos, e, esta variedade possibilita um grande campo de atuação desses dispositivos. Dentre os materiais mais utilizados para realizar a modificação, destacam-se os materiais em escala nanométrica.

As NPs metálicas de metais nobres como ouro, platina e prata, por exemplo, são temas de um número crescente de publicações, devido as suas propriedades eletrônicas e eletrocatalíticas. Quando aplicadas na modificação de eletrodos, as NPs metálicas fornecem área superficial

maior, melhoram a seletividade, exibem atividade catalítica e propriedades ópticas diferenciadas.

No tópico seguinte será discutidos sobre as AgNPs que foram utilizadas nesse trabalho para modificação da superfície do GCE (substrato condutor).

1.2 Nanopartículas de prata

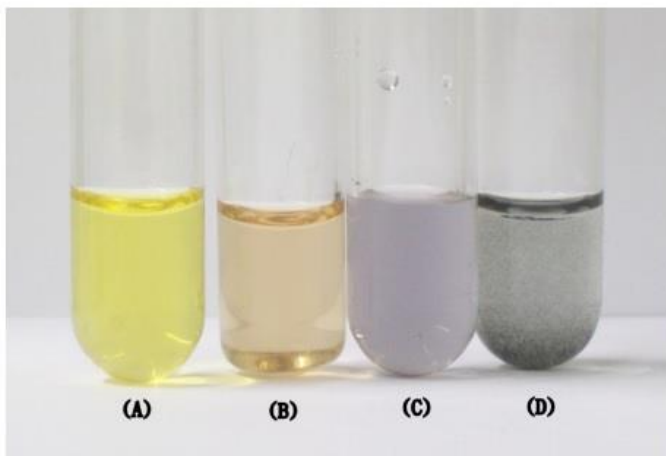
Dentre os inúmeros tipos de metais utilizados na preparação de NPs, é de grande interesse a prata, especialmente por suas propriedades catalíticas. Esse metal apresenta propriedades únicas atribuídas aos metais nobres, como por exemplo, ótima condutividade, estabilidade química e atividade catalítica. Na forma de NPs, no entanto, a prata apresenta uma superfície de contato muito maior e consequentemente suas propriedades são aumentadas (FRATTINI et al., 2005).

Uma das propriedades mais importantes da prata é a atividade antimicrobiana. A sua ação bactericida é conhecida desde a antiguidade, onde esse metal era muito utilizado no tratamento contra patologias ocasionadas por bactérias. No entanto, seu uso diminuiu consideravelmente a partir da década de 1940 com a descoberta de antibióticos, como a penicilina. Com o surgimento de resistência aos antibióticos, os pesquisadores voltaram a se interessar pelo metal para desenvolver novos antimicrobianos. Por possuir tal atividade, as AgNPs já são amplamente utilizadas em refrigeradores, celulares, roupas, etc (PANACEK et al., 2006).

Os métodos de produção de AgNPs são baseados na redução química de sais de prata em meio aquoso, utilizando algum agente redutor como citrato de sódio, ascorbato e borohidreto de sódio. Também são sintetizadas por métodos como ablação a laser, irradiação por microondas, processos de micelas reversas, decomposição térmica e métodos eletroquímicos (ANTUNES et al., 2013).

Quando os íons metálicos são reduzidos, surge uma cor intensa na suspensão formada. Essa cor possui dependência direta com as propriedades dimensionais dessas NPs. As AgNPs possuem cor amarela, devido às transições entre bandas eletrônicas que acomodam os elétrons superficiais (plasmons), denominada banda plasmônica. Com o aumento do tamanho, a cor amarela característica passa para laranja e, posteriormente, violeta até atingir a coloração característica prata em escala macroscópica, como mostra a Figura 1 (MELO et al., 2012).

Figura 1. Mudança da coloração dependente do tamanho da prata coloidal: amarelo claro (A), laranja (B), violeta (C) e cinza (D).

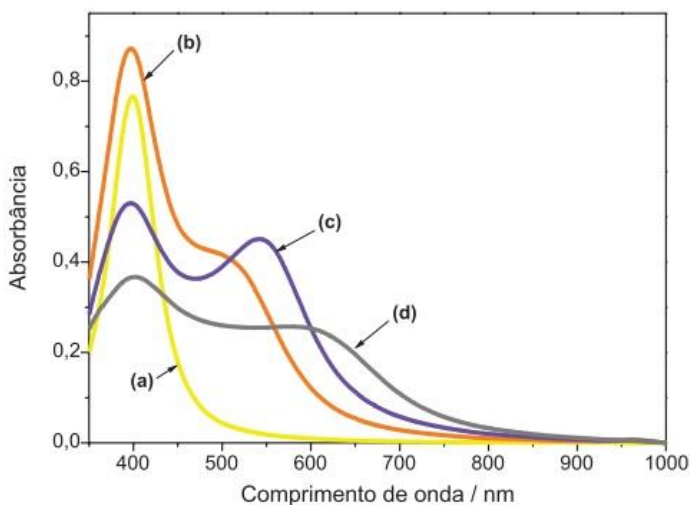


Fonte: Extraído de MELO et al., 2012.

Devido à presença de coloração, uma banda de absorção específica, atribuída à banda plasmônica, pode ser obtida por espectroscopia UV-vis para AgNPs.

Como demonstrado por Melo e colaboradores, a solução contendo AgNPs exibe uma banda com máximo de absorbância em 396 nm. Com o aumento do tamanho das partículas, ou seja, a medida que elas vão se agregando, a banda torna-se mais larga e, uma nova banda, surge em um comprimento de onda maior. Na Figura 2, observam-se os espectros para cada solução onde é possível notar que a prata nanoparticulada (Figura 2a) apresenta uma única banda, a qual é estreita. A medida que ocorre a agregação, nota-se o surgimento de uma nova banda, a qual torna-se mais larga e com máximo de absorção deslocado para comprimentos de onda cada vez maiores. (Figura 2b, 2c e 2d) (MELO et al., 2012).

Figura 2. Espectros eletrônicos das soluções nos quatro estágios de agregação visualizados: solução amarela clara (a), cor de laranja (b), violeta (c) e cinza (d).



Fonte: Extraído de MELO et al., 2012.

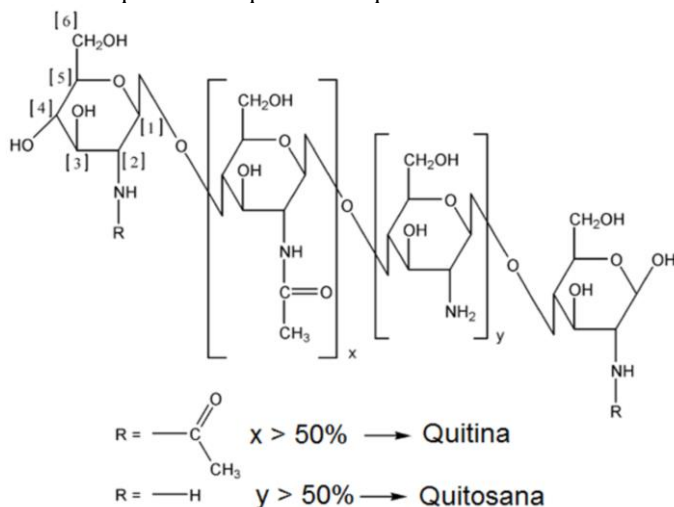
A presença de um agente estabilizante é um fator muito importante na síntese de NPs. Como mencionado, elas tendem a se agregar, pois são termodinamicamente instáveis. Assim, é de suma importância que durante a síntese das NPs se utilize um agente encapsulante com o objetivo de evitar essa aglomeração. Esses estabilizantes adsorvem sobre as superfícies das NPs, formando uma camada auto-organizada que impede o seu crescimento. A estabilização pode ser promovida por surfactantes (BÖNNEMANN et al., 1996), ligantes orgânicos (RAMIREZ et al., 2004), dendrímeros (NCUBE; HLABATHE; MEIJBOOM, 2015), líquidos iônicos (CUI et al., 2015) e polímeros (MOHAN; SANKARRAJAN; THIRUPPATHI, 2015). Nesse trabalho foi utilizado o biopolímero quitosana na estabilização das AgNPs, cujas características são descritas a seguir.

1.3 Quitosana

A quitosana é um biopolímero obtido da quitina. Na natureza, a quitina é um dos polímeros mais produzidos depois da celulose, sendo encontrado em ecossistemas aquáticos e é responsável pelas funções estruturais em artrópodes, majoritariamente em crustáceos, como na carapaça de caranguejos e na casca do camarão.

O método mais utilizado para obtenção da quitosana consiste na desacetilação da quitina por hidrólise alcalina com uma solução de hidróxido de sódio. Tanto a quitina, quanto a quitosana apresentam em sua estrutura química unidades 2-acetamida-2-desoxi-D-glicose (GlcNAc) e 2-amino-2-desoxi-D-glicose (GLcN) unidas por ligações glicosídicas $\beta(1-4)$. Na obtenção da quitosana via desacetilação da quitina, os grupos acetamido ($-\text{NHCOCH}_3$) das unidades de GlcNAc são transformados em grupos amino ($-\text{NH}_2$). Em geral, o produto desacetilado da quitina passa a ser considerado quitosana quando o grau de conversão dos grupos $-\text{NHCOCH}_3$ em $-\text{NH}_2$ é maior que 50%, valor a partir do qual o biopolímero se torna solúvel em soluções ácidas diluídas (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009).

A Figura 3 ilustra as estruturas químicas da quitina e da quitosana.



Fonte: Adaptado de (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009)

É importante ressaltar que a obtenção da quitosana é um processo barato, já que as cascas e as carapaças de camarões e caranguejos não são utilizadas pela indústria alimentícia, sendo portanto descartáveis. Estima-se que a produção industrial de quitina proveniente de carapaças de crustáceos é de 50.000 toneladas anualmente. O Japão, os Estados Unidos e a China são os maiores produtores de quitina, mas o biopolímero também é produzido na Índia, Noruega, Canadá, Itália, Polônia e Brasil (PILLAI; PAUL; SHARMA, 2009).

Com relação à solubilidade da quitosana, salienta-se que esse composto é insolúvel em água, em solventes orgânicos e em bases, sendo solúvel na maioria das soluções ácidas com pH abaixo de 5,0. Após dissolução em meio ácido, os grupos amino livres da quitosana tornam-se protonados ($-\text{NH}_4^+$), o que facilita sua solvatação em água (GUIBAL, 2005). Por ter essa característica, métodos para modificar a sua cadeia polimérica são realizados primeiramente pela dissolução em meio ácido e depois pela adição do grupo modificador.

A quitosana apresenta uma grande gama de aplicações. Essas aplicações estão relacionadas às diversas características desse biopolímero, como por exemplo: a possibilidade de ser quimicamente e fisicamente modificada, ser um polímero biodegradável, biocompatível e que apresenta uma baixa toxicidade, o que o torna mais eficiente para aplicações biológicas (TSIGOS et al., 2000).

As principais aplicações desse polímero encontram-se descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Principais aplicações do biopolímero quitosana.

Área	Aplicação
Biomédica/ Biotecnológica	Biomembranas artificiais, sutura cirúrgica.
Farmacêutica/Cosmética	Produtos dermatológicos, agente cicatrizante, aditivo de medicamentos, controle do colesterol, liberação controlada de fármacos, spray para cabelo, cremes para as mãos e corpo, xampus, hidratantes.
Alimentícia	Aditivos alimentares, nutrição animal, embalagem biodegradável para alimentos, ação antimicrobiana nos alimentos, clarificação e desacidificação de sucos de frutas, agente emulsificante.
Agricultura	Fertilizantes, defensivos agrícolas, proteção de plantas, liberação controladas de agroquímicos.
Outras	Fotografia: papel e filmes Oftalmológica: Lentes de contato Odontológica: Implante dentário Indústria têxtil: propriedades antibactericidas Indústria de papel: proteção da superfície.

Fonte: Adaptado de (RINAUDO, 2006)

Na área da química, a quitosana é empregada na remoção de corantes e metais pesados de águas e efluentes industriais (JUSTI et al., 2004), como matriz polimérica na separação seletiva de proteínas (GUO

et al., 2005), na imobilização de enzimas e transporte de espécies iônicas (GUO, et al., 2005), como suportes cromatográficos (RINAUDO, 2006), na fabricação de sensores e biossensores, etc.

Na construção de sensores, a quitosana é bastante utilizada como agente estabilizante e agente redutor de NPs. No tópico seguinte serão relatados alguns trabalhos sobre a utilização da quitosana como agente estabilizante e/ou redutor de NPs para o desenvolvimento de sensores.

1.3.1 Utilização da quitosana para construção de sensores

Huang e colaboradores propuseram a modificação de um eletrodo de ouro com nanofios de óxido de manganês (II) estabilizados em quitosana para detecção de dopamina (DA). Esse sensor foi preparado de uma maneira muito simples, a qual consistia em gotejar sobre a superfície do eletrodo de ouro 2 μL de uma suspensão de nanofios de óxido de manganês (II) dispersa em uma solução de quitosana. A técnica utilizada foi a cronoamperometria (do inglês, *chronoamperometry*– CA) e o eletrodo modificado mostrou uma resposta linear na faixa de concentração de 0,10 – 12 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com um LD de 0,04 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (HUANG et al., 2013).

MansouriMajd e colaboradores utilizaram a quitosana juntamente com um determinado líquido iônico para estabilizar NPs de óxido de manganês com o objetivo de construir um sensor para detecção de teofilina. Para fabricar o sensor, primeiramente a quitosana foi depositada eletroquimicamente sobre a superfície do GCE. Depois, o líquido iônico (1 - brometo de (3-aminopropil)-3-metilimidazólio) foi covalentemente ligado à superfície modificada e por fim foram depositadas eletroquimicamente as NPs de óxido de manganês. A técnica utilizada foi a voltametria de pulso diferencial (do inglês, *differential pulse voltammetry*– DPV) e o sensor desenvolvido apresentou uma variação linear de corrente em função da concentração de teofilina na faixa de 0,2 – 0,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e um LD de 50 nmol L^{-1} (MANSOURIMAJD et al., 2013).

NPs de carbono estabilizadas em quitosana foram utilizadas para a fabricação de um sensor para detecção dos isômeros de dihidroxibenzeno (hidroquinona, catecol, resorcinol) por Amiri e colaboradores. Os autores modificaram a superfície de um GCE gotejando 10 μL de uma solução contendo NPs de carbono dispersas em quitosana. As faixas lineares obtidas por DPV foram: $8,0 \times 10^{-7}$ – $1,0 \times$

10^{-4} ; $8,0 \times 10^{-7} - 1,0 \times 10^{-4}$ e $8,0 \times 10^{-6} - 1,0 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ e os LD: $2,0 \times 10^{-7}$, $2,0 \times 10^{-7}$ e $3,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹, para os três compostos, respectivamente (AMIRI et al., 2012).

Wang e colaboradores sintetizaram NPs de paládio estabilizadas em quitosana e grafeno que foram utilizadas para modificar a superfície de um GCE. Inicialmente foram gotejados sobre a superfície do GCE 10 µL de uma solução contendo grafeno e quitosana, depois as NPs de paládio foram depositadas eletroquimicamente. Esse sensor foi aplicado para determinação simultânea de ácido ascórbico (AA), DA e ácido úrico (AU) por DPV. Os limites de detecção obtidos para o AA, DA e AU foram: 20 µmol L⁻¹, 0,1 µmol L⁻¹ e 0,17 µmol L⁻¹, respectivamente (WANG et al., 2013).

Singh e colaboradores reportaram o uso de um nanocompósito contendo NiFe₂O₄, óxido de cobre (II), óxido de ferro (II) e quitosana que foi utilizado para modificação de um eletrodo de óxido de estanho dopado com índio (do inglês, *indium tin oxide*– ITO) e depois aplicado para determinação de colesterol empregando a DPV. A faixa linear de trabalho variou de 50 a 5000 mg L⁻¹, e o LD foi de 313 mg L⁻¹ (SINGH et al., 2012).

Recentemente, Dehdashtian e colaboradores, desenvolveram um sensor para a molécula de morfina, utilizando um CPE modificado com NPs magnéticas de Fe₃O₄ revestidas com quitosana. As NPs foram sintetizadas pela co-precipitação de sais de Fe(II) e Fe(III) na presença de quitosana. Tal material foi caracterizado por espectroscopia no infravermelho, comprovando a presença das NPs magnéticas revestidas com o polímero. A curva de calibração obtida por DPV apresentou duas regiões lineares de 10 – 2000 nmol L⁻¹ e 2 – 720 µmol L⁻¹ com um LD de 3 nmol L⁻¹ (DEHDASHTIAN et al., 2016).

Xiang e colaboradores, por sua vez, utilizaram a quitosana como estabilizante de NPs de ouro. Os autores sintetizaram as NPs e, posteriormente, misturaram com uma solução de quitosana. O material foi caracterizado e as imagens obtidas por microscopia eletrônica de transmissão (do inglês, *transmission electron microscopy*– TEM) mostraram que as NPs estavam bem dispersas no biopolímero e apresentaram um tamanho médio de aproximadamente 10 nm. A solução de NPs foi utilizada para modificar a superfície do GCE e o imunossensor obtido foi aplicado para a detecção de Salmonella por DPV (XIANG et al., 2015).

Por fim, Guo e colaboradores utilizaram a quitosana como agente estabilizante e agente redutor para sintetizar óxido de grafeno reduzido

(RGO) e também híbridos contendo NPs de ouro ou prata e RGO. Para produzir o RGO, soluções de óxido de grafeno e quitosana foram misturadas por um determinado tempo e temperatura, e, para produzir os híbridos, soluções de ouro ou prata foram inicialmente misturadas com uma solução de óxido de grafeno e depois foi adicionado a essa mistura a solução de quitosana, obtendo assim as NPs de ouro ou prata e o RGO. Os materiais foram caracterizados, e a eficácia da quitosana como agente redutor foi comprovada. Os autores construíram sensores e demonstraram a aplicabilidade do material investigando a eletroxidação do metanol (GUO et al., 2012).

1.4 Utilização de nanopartículas de prata e quitosana na construção de sensores

Na literatura pouco é encontrado sobre a utilização de AgNPs juntamente com quitosana para a construção de sensores eletroquímicos.

Um dos poucos trabalhos encontrados foi o desenvolvido por Lin e colaboradores em 2009. Os autores desenvolveram um biossensor para glicose usando um filme de AgNPs, nanotubos de carbono e quitosana. Nesse filme, construído pelo método *layer by layer* foram imobilizadas as enzimas peroxidase de rábano e glicose-oxidase. Uma relação linear entre a corrente e a concentração de glicose na faixa de 0,5 – 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e um LD com um valor 0,1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ foram obtidos por CA (LIN et al., 2009).

Três anos depois, Prakash e colaboradores modificaram a superfície do GCE com AgNPs estabilizadas em quitosana para detecção de arsênio (III) por DPV no modo redissolução anódica. A faixa linear da corrente em função da concentração de arsênio (III) foi no intervalo de 10 a 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ e um LD de 16,2 nmol L^{-1} foi obtido (PRAKASH et al., 2012).

No mesmo ano, Zhou e colaboradores mostraram a fabricação de um sensor para peróxido de hidrogênio (H_2O_2) utilizando a enzima sarcosina oxidase imobilizada em um GCE modificado com AgNPs, quitosana e grafeno. A faixa linear obtida utilizando a técnica de CA foi de 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 17,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ e o LD foi de 1,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (ZHOU et al., 2012).

Finalmente, em um quarto trabalho, Lian e colaboradores, utilizaram um eletrodo impresso de ouro modificado com AgNPs estabilizadas em quitosana, grafeno e nanotubos de carbono de paredes

múltiplas (do inglês, *multiple walled carbon nanotubes*– MWCNT) para detecção de neomicina utilizando CA. A faixa linear para o antibiótico variou de $9,0 \text{ nmol L}^{-1}$ a $7,0 \text{ } \mu\text{mol}$ e o LD foi de $7,63 \text{ nmol L}^{-1}$ (LIAN et al., 2013).

Por outro lado, AgNPs estabilizadas em outros materiais são bastante utilizadas na construção de sensores. A

Tabela 2 resume algumas das publicações mais recentes sobre esse assunto.

Tabela 2. Sensores utilizando AgNPs e outros materiais na detecção de compostos diversos.

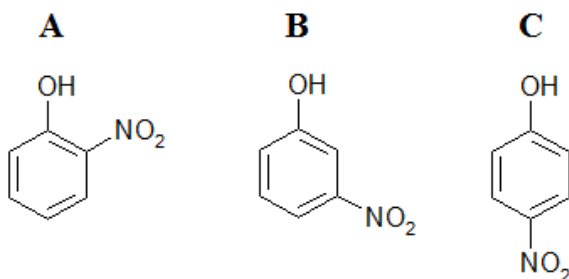
Sensor	Analito	Técnica	Limite de detecção	Referência
GCE modificado com AgNPs	Colesterol	CA	0,1 mg dL ⁻¹	(NANTAPHOL; CHAILAPAKUL; SIANGPROH, 2015a)
BDDE modificado com AgNPs	Colesterol	CA	0,2 mg dL ⁻¹	(NANTAPHOL; CHAILAPAKUL; SIANGPROH, 2015b)
GCE modificado com Hemoglobina, AgNPs e poliamidoamina	H ₂ O ₂	CA	4,9 µmol L ⁻¹	(BACCARIN et al., 2016)
BDDE modificado com hemoglobina e AgNPs	H ₂ O ₂	CA	1,0 µmol L ⁻¹	(JIANG; HU; FOORD, 2015)
GCE modificado com MWCNT e AgNPs	Halotano	LSV	50,0 ppm	(PIFFERI et al., 2015)
GCE modificado AgNPs e líquido iônico funcionalizado com MWCNT.	H ₂ O ₂	DPV	3,9 nmol L ⁻¹	(LI et al., 2013)
ITO modificado com AgNPs e RGO.	H ₂ O ₂	CA	5,0 µmol L ⁻¹	(MORADI GOLSHEIKH et al., 2013)
GCE modificado com AgNPs.	H ₂ O ₂	CA	1,3 µmol L ⁻¹	(LIAO et al., 2013)
GCE modificado com AgNPs e MWCNT.	Zolmitriptano	DPV	2,1 nmol L ⁻¹	(KARADAS et al., 2013)
SPE modificado com grafeno e AgNPs funcionalizadas com estreptavidina .	Imunoglobina E	SWV	3,6 ng mL ⁻¹	(SONG et al., 2013)
GCE modificado com AgNPs e poli(o-fenilenodiamina)	H ₂ O ₂	CA	1,5 µmol L ⁻¹	(WANG et al., 2012)

Observa-se, na tabela 2, que a utilização de AgNPs confere baixos limites de detecção aos sensores, porém na maioria dos casos o analito em questão é o peróxido de hidrogênio. Nesse trabalho, utilizou-se o dispositivo fabricado na determinação de compostos nitroaromáticos, mais especificadamente nitrofenóis e os pesticidas PDM, e EPT, os quais serão discutidos adiante.

1.5 Nitrofenóis

Nitrofenóis são compostos orgânicos aromáticos cuja estrutura química apresenta uma hidroxila (—OH) e um grupo nitro (—NO_2) ligados diretamente ao anel benzênico nas posições 1,2 (orto), 1,3 (meta) ou 1,4 (para). Os isômeros possíveis são denominados: 2-nitrofenol (2-NF), 3-nitrofenol (3-NF) e 4-nitrofenol (4-NF) (Figura 4).

Figura 4. Estruturas químicas dos nitrofenóis: (A) 2-NF; (B) 3-NF e (C) 4-NF.



Esses compostos são bastante utilizados na produção de corantes, fungicidas, explosivos, na indústria de manufatura da borracha, como reagentes químicos, fármacos e pesticidas (DENG et al., 2012; YAO et al., 2015).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos identificou 126 compostos químicos com elevada toxicidade aos organismos vivos. Destes, sete apresentam em sua estrutura o grupo fenol, como, por exemplo, os nitrofenóis. A descontaminação de água contendo compostos nitroaromáticos, por exemplo, é um processo geralmente muito difícil, uma vez que a presença de um grupo nitro confere ao composto aromático uma forte estabilidade química, então, consequentemente a degradação microbiana torna-se dificultada (DENG et al., 2012).

Dentre os três nitrofenóis, há grande interesse no 4-NF pois este é o produto tóxico da hidrólise de alguns pesticidas como, por exemplo, o organofosforado EPT. Além disso, há dados na literatura que provam que o 4-NF causa danos significativos para o meio ambiente e para o ser humano, como lesões no fígado e nos rins (BEAUCHAMP et al., 1982).

A toxicidade e a vasta aplicação de produtos contendo estes compostos, tornaram a determinação dos nitrofenóis um dos principais focos das análises ambientais.

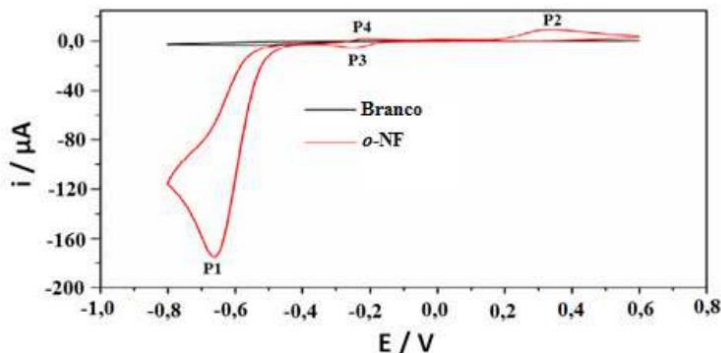
Na literatura encontramos que as determinações dos isômeros de nitrofenóis podem ser realizadas por diferentes métodos analíticos como cromatografia, espectrofotometria, eletroforese capilar (BELLOLI et al., 1999; GUO; WANG; ZHOU, 2004; HONEYCHURCH; HART, 2007; MIRÓ et al., 2001; NIAZI; YAZDANIPOUR, 2007; PERRY et al., 2010) e também por métodos eletroquímicos, que é o foco desse trabalho e será discutido mais detalhadamente no próximo tópico.

1.5.1 Determinação eletroquímica de nitrofenóis

A determinação eletroquímica desses compostos pode ser realizada explorando processos redox diferenciados.

Ndlovu e colaboradores mostraram esses processos em um voltamograma cíclico para o 2-NF utilizando um GCE modificado com NPs de ouro estabilizadas no polímero poli(propileno)imina. A Figura 5, exibe o voltamograma cíclico obtido, no qual variou-se o potencial na varredura de ida de 0,6 V até -0,8 V e depois na varredura de volta de -0,8 V até 0,6 V. O tampão fosfato salino (pH 5,0) foi utilizado como eletrólito suporte. Observam-se 4 picos, denominados P1, P2, P3 e P4. O pico 1 (P1), em aproximadamente -0,660 V, é referente a redução eletroquímica irreversível do 2-NF formando 2-(hidroxiamino)fenol, nesta reação estão envolvidos quatro elétrons e quatro prótons. Em 0,350 V, observa-se um pico de oxidação (P2) que refere-se ao processo irreversível de oxidação do grupo hidroxila (-OH) presente na estrutura. Já os picos 3 e 4 (P3 e P4), em -0,200 V, são referentes ao processo reversível de oxidação do grupo hidroxialamina (-NHOH) formando o grupo nitroso (-NO). Nesta reação estão envolvidos dois elétrons e dois prótons (NDLOVU et al., 2010).

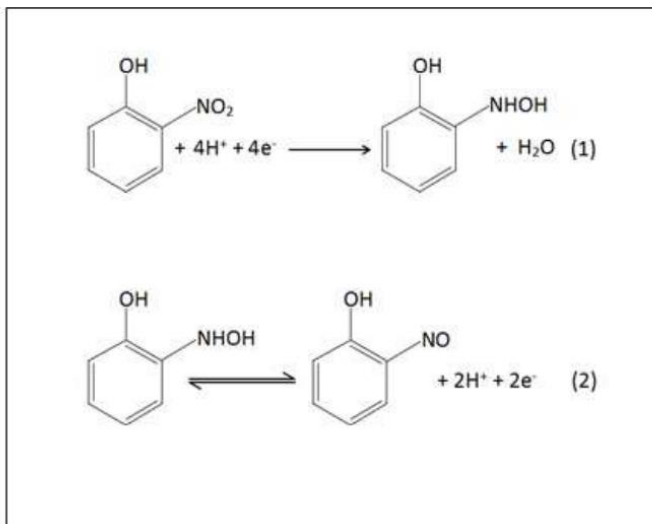
Figura 5. Voltamograma cíclico obtido para o 2-NF em tampão fosfato salino (pH 5,0) utilizando um GCE modificado com nanopartículas de ouro estabilizadas no polímero poli(propileno)imina.



Fonte: Adaptado de NDLOVU et al., 2010.

Dentre todos os processos apresentados, os mais utilizados para estudos eletroquímicos são os que envolvem o P1 (processo irreversível) e os P4 e P3 (processo reversível). O mecanismo desses processos está mostrado na Figura 6. É importante ressaltar que este mecanismo pode ser considerado para os outros isômeros e também para outros compostos que tenham o grupo nitro ligado a um anel aromático, como é o caso dos pesticidas PDM e EPT.

Figura 6. Processos eletroquímicos envolvidos da determinação do 2-NF. (1) Reação eletroquímica irreversível de redução do 2-NF formando 2-(hidroxiamino)fenol. (2) Reação reversível de oxidação do grupo hidroxialamina (-NHOH) para o grupo nitroso (-NO).



Fonte: Adaptado de NDLOVU et al., 2010.

A seguir, encontra-se um breve relato de alguns trabalhos realizados recentemente sobre a determinação eletroquímica destes nitrocompostos.

Wang e colaboradores determinaram o 4-NF por voltametria cíclica (do inglês, *cyclic voltammetry*– CV) utilizando um eletrodo contendo um filme uniforme de nanopartículas de carbono vítreo. O pico de oxidação foi escolhido para a determinação e a curva de calibração foi linear na região de $0,5 - 3000,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ com um LD de $0,23 \mu\text{mol L}^{-1}$. Por fim, o sensor foi aplicado na detecção do nitrocomposto em amostras de água, nas quais obteve-se uma porcentagem de recuperação na faixa de 98,8–105,8% (WANG et al., 2015).

O 4-NF também foi determinado por Arulraj e colaboradores com um GCE modificado com nanofilme contendo polipirrol e dodecil sulfato de sódio. Nesse trabalho foi utilizado o processo de oxidação e a técnica de SWV. A faixa linear obtida variou de $0,1 \text{ nmol L}^{-1} - 100,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ com um LD de $0,1 \text{ nmol L}^{-1}$. O sensor foi utilizado na determinação do 4-NF em amostra de água e a faixa de recuperação ficou entre 97,25% e 102,0% (ARULRAJ; VIJAYAN; VASANTHA, 2015).

Oliveira e colaboradores, por sua vez, desenvolveram um método para determinação de 4-NF modificando o GCE com um derivado de

fenazina adsorvido em grafeno. A faixa linear de trabalho variou de 1,0 a 1170,0 nmol L⁻¹ por DPV e de 500 a 5600 nmol L⁻¹ por CA. Os limites de detecção obtidos por DPV e CA foram 0,3 nmol L⁻¹ e 0,15 µmol L⁻¹, respectivamente. Nesse trabalho o sensor também foi aplicado satisfatoriamente em amostras de água (OLIVEIRA et al.; 2015).

Outros trabalhos encontrados na literatura retratam a determinação simultânea dos isômeros.

Silva e colaboradores desenvolveram um sensor para a detecção simultânea de 4-NF e 2-NF utilizando um GCE modificado com NPs de ouro estabilizadas no polímero cloreto de 3-n-propil-4-picolina silsesquioxano. O processo de redução irreversível foi escolhido para a realização dos estudos. A detecção simultânea foi possível pois os dois compostos apresentaram uma separação dos potenciais de pico de redução de 144 mV. Depois de otimizadas as melhores condições de trabalho, as correntes de pico de ambos os compostos aumentaram linearmente com o aumento de suas concentrações na faixa de 0,1 a 1,5 µmol L⁻¹. Os limites de detecção obtidos foram 43,0 nmol L⁻¹ e 54,0 nmol L⁻¹ para o 4-NF e o 2-NF, respectivamente (SILVA et al., 2014).

Guo e colaboradores detectaram eletroquimicamente o 4-NF utilizando um GCE modificado com ouro impresso na arquitetura lamelar. Os voltamogramas cíclicos obtidos em tampão fosfato salino (pH 6,0) mostraram o processo redox característico, no qual foi observado um pico de redução irreversível em -0,55 V e um par redox reversível em um potencial de aproximadamente 0,15 V. Para construir a curva de calibração foi utilizada a técnica DPV e analisado o pico de oxidação do par redox. Duas faixas lineares foram encontradas: a primeira variou de $2,5 \times 10^{-8}$ a $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ e a segunda de $1,0 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ a $3,0 \times 10^{-4}$ mol L⁻¹ com um LD de $2,0 \times 10^{-8}$ mol L⁻¹ (GUO et al., 2015).

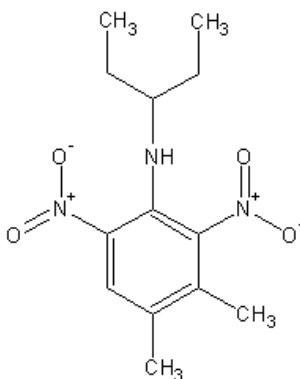
Já Wei e colaboradores detectaram os três isômeros simultaneamente utilizando um GCE modificado com um filme de polifurfural. A técnica utilizada foi a DPV e o pico analisado foi o referente a redução do grupo nitro. Sob condições otimizadas o sensor apresentou uma variação linear da corrente com a concentração na faixa de 5,0 – 100 µmol L⁻¹, 0,75 – 100 µmol L⁻¹ e 0,75 – 100 µmol L⁻¹ com LD de 0,3, 0,05 e 0,04 µmol L⁻¹ para o 2-NF, 3-NF, 4-NF, respectivamente. O sensor desenvolvido foi aplicado para determinação dos isômeros em amostras de água e os valores de recuperações obtidos foram satisfatórios (WEI et al., 2015).

A determinação simultânea por DPV também foi realizada por Yao e colaboradores. Os autores utilizaram um eletrodo de grafite modificado com ácido para-aminobenzeno sulfônico. O processo investigado foi a oxidação e os picos para o 2-NF, 3-NF e 4-NF foram obtidos em 0,119 V, 0,125 V e 0,027 V, respectivamente. As faixas lineares variaram de 3,0 – 800 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o 2-NF e 3 – 700 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para os dois outros isômeros. Os limites de detecção obtidos foram 0,28, 0,5 e 0,3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o 2-NF, 3-NF e 4-NF, respectivamente. O sensor foi aplicado para a determinação simultânea dos nitrofenóis em amostras de água e a faixa de recuperação ficou entre 98–107% (YAO et al., 2015).

1.6 Pendimetalina

A PDM ([N-1-(etil propil)-2,6-dinitro-3,4-metil-toluidina]) é um composto químico que em sua estrutura possui dois grupos nitro, ligados a um anel aromático como mostrado na Figura 7.

Figura 7. Estrutura química da PDM.



Sabe-se que é um composto empregado na preparação de alguns pesticidas que são aplicados na erradicação de ervas daninhas de folhas largas em culturas de milho, soja, batata, trigo, cebola, tomate, couve, e pimenta (SHAH et al., 2011).

Estudos mostram que esse pesticida possui uma grande toxicidade para os peixes e invertebrados aquáticos, além de possuir uma alta capacidade de adsorção em material orgânico. Além disso, o uso da PDM está relacionado a alterações fisiológicas, efeitos endócrinos e mutagênicos em seres humanos (DIMITROV et al., 2006).

Na literatura encontram-se alguns métodos desenvolvidos para determinação desse pesticida, utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa, com diferentes tipos de detectores, incluindo arranjo de diodos (PAPADOPOULOU-MOURKIDOU; PATSIAS, 1996), ultravioleta (SHAH et al., 2011), espectrometria de massa (NIETO-GARCÍA; ROMERO-GONZÁLEZ; GARRIDO FRENICH, 2015), captura de elétrons (MARTÍNEZ-UROZ et al., 2012), nitrogênio-fósforo (FENOLL et al., 2007). A técnica de imunoensaio também foi empregada na determinação desse composto (HEGEDUS; BÉLAI; SZÉKÁCS, 2000).

Poucos são os trabalhos encontrados sobre a determinação desse composto empregando métodos eletroquímicos e nenhum foi encontrado utilizando sensores modificados com NPs, como é o caso desse trabalho.

Galli e colaboradores, por exemplo, desenvolveram uma metodologia eletroanalítica para determinar PDM em água natural, comida para bebê e sedimento de rio utilizando um eletrodo de mercúrio de gota pendente. Os autores utilizaram a SWV e tampão Britton-Robinson (pH 8,0) como eletrólito suporte. Dois picos de redução foram observados em $-0,60$ V (pico 1) e $-0,69$ V (pico 2), referentes a redução dos dois grupos nitro presentes na estrutura da PDM. Após a construção da curva de calibração, observaram-se duas regiões lineares para os dois picos. A primeira linearidade, variou de $0,5$ até $4,5$ $\mu\text{mol L}^{-1}$ com um LD de $0,028$ $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o pico 1 e $0,019$ $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o pico 2 e a segunda linearidade variou de $5,5$ até $9,5$ $\mu\text{mol L}^{-1}$ com um LD de $0,045$ $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o primeiro pico e $0,028$ $\mu\text{mol L}^{-1}$ para o segundo pico (GALLI; DE SOUZA; MACHADO, 2011).

Ni e colaboradores também utilizaram um eletrodo de gota pendente de mercúrio e realizaram a determinação simultânea de três herbicidas, incluindo a PDM, utilizando a DPV e tampão Britton-Robinson (pH 5,72) como eletrólito suporte. Nesse artigo, também foram usados os dois picos de redução da PDM, sendo o primeiro em $-0,190$ V e o segundo em $-0,315$ V. A corrente de redução do pesticida variou linearmente com a sua concentração na faixa de $0,03$ mg L^{-1} – $0,23$ mg L^{-1} para os dois picos, e os LD foram $0,007$ mg L^{-1} e $0,006$ mg L^{-1} para o primeiro e segundo pico, respectivamente. O eletrodo foi

aplicado para detecção do pesticida em amostras de vegetais e água e as porcentagens de recuperação ficaram entre 92% e 102% (NI; WANG; KOKOT, 2011).

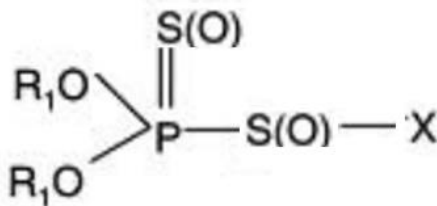
Recentemente, Gerent e colaboradores utilizaram um eletrodo de GCE modificado com filme de bismuto e SWV para a detecção de PDM. O pesticida apresentou um pico de redução em $-0,585$ V em uma solução de HCl (pH 3,0). A curva de calibração obtida apresentou duas faixas lineares, sendo a primeira de $0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e a segunda de $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ a $4,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ e um LD de $37,0 \text{ nmol L}^{-1}$ foi obtido. O sensor foi aplicado na determinação do herbicida em amostras de água de torneira e água do mar e a porcentagem de recuperação abrangeu valores entre 93% e 96% (GERENT et al., 2015).

O último composto nitroaromático utilizado nesse trabalho, foi o EPT, um pesticida enquadrado nos compostos organofosforados. Esses compostos são altamente tóxicos, por isso há um grande interesse no desenvolvimento de métodos para sua quantificação. Os próximos tópicos dessa revisão bibliográfica abordarão esse tema.

1.7 Pesticidas organofosforados (OPs)

Basicamente, a estrutura química dos OPs (Figura 8) constitui-se de um átomo de fósforo (P) central pentavalente, que está ligado a um átomo de enxofre (S) ou oxigênio (O) por meio de uma dupla ligação, dois grupos metóxi ($-\text{OCH}_3$) ou etóxi ($-\text{OCH}_2\text{CH}_3$) ligados ao átomo de P por uma ligação simples e um grupo X, ligado ao átomo de P por um átomo de O ou S, o que diferencia um organofosforado de outro (BAIRD; CANN, 2011).

Figura 8. Estrutura química geral para OPs.



A toxicidade de OPs depende de fatores como a estrutura química, metabolismo do organismo atingido, dose aplicada, forma de aplicação e grau de decomposição. Nos seres humanos causa intoxicação, pois os OPs ligam-se à enzima acetilcolinesterase e inibem irreversivelmente a sua ação que é essencial para o funcionamento do sistema nervoso central. Especificamente, os OPs interferem na comunicação realizada entre as células do sistema nervoso. As células só se comunicam pois existe a ação da molécula acetilcolina, que é automaticamente destruída após essa comunicação. Como mencionado acima, os OPs ligam-se a enzima acetilcolinesterase, que é uma enzima responsável por destruir a acetilcolina, bloqueando assim a ação dessas enzimas. Ou seja, haverá uma supressão da transmissão continuada de impulsos entre as células nervosas, resultando em problemas nos processos vitais do organismo (BAIRD; CANN, 2011).

A intoxicação pode ocorrer por inalação, pela ingestão ou através da pele. Os sintomas típicos de intoxicação são: fadiga, dor de cabeça, tontura, dormência nos braços ou pernas, náuseas e vômitos, sudorese excessiva, salivação, cólicas abdominais (ou diarreia), incapacidade de andar, fraqueza generalizada, dificuldade em falar, espasmos

musculares, contração da pupila do olho, e inconsciência. Níveis mais altos de envenenamento apresentam sintomas mais graves, tais como ataque cardíaco, pressão alta ou baixa, acidente vascular cerebral, podendo levar a morte. Estudos recentes têm realçado que as crianças expostas à OPs são mais susceptíveis de serem diagnosticadas com transtorno de déficit de atenção e hiperatividade, pancreatite, hipo ou hiperglicemia e insuficiência renal aguda (KUMAR; KIM; DEEP, 2015).

Como pode ser visto na Figura 9, os OPs são amplamente empregados na agricultura.

Figura 9. Consumo de pesticidas organofosforados em várias culturas nos Estados Unidos.



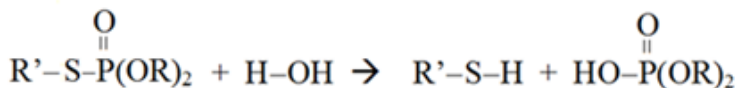
Fonte: (BAIRD; CANN, 2011)

Geralmente, esses compostos se decompõem em dias ou semanas, ou seja, não bioacumulam na cadeia alimentar, no entanto, por serem altamente tóxicos, eles representam um perigo à saúde daqueles que possuem contato com eles. Infelizmente, o uso de compostos à base de OPs em terras agrícolas resultou em sua presença como resíduo nas culturas de gado, aves e também no meio aquático.

Os organofosforados se decompõem em meio aquoso por meio de uma reação de hidrólise (Esquema 2). As moléculas de água hidrolisam as ligações P-S e P-O nos organofosforados pela adição de H ao átomo

de enxofre ou oxigênio e OH ao átomo de fósforo (BAIRD; CANN, 2011).

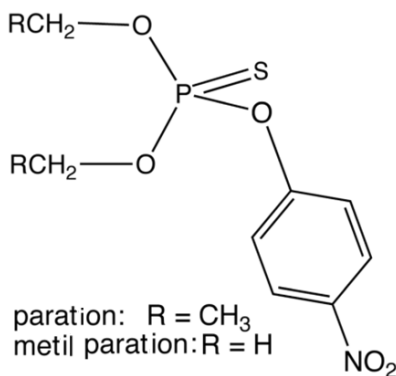
Esquema 2. Reação de hidrólise de um organofosforado qualquer.



Como exemplos principais de OPs, podemos citar: Maration, coumafós, clorpirifós e o EPT que foi o pesticida organofosforado analisado nesse trabalho.

O EPT (O,O-di-*tert*-butil O-4-nitrofenil fosforotioato) ou simplesmente paration (Figura 10) se enquadra na classe dos organofosforados mais tóxicos existentes, sendo sua dose oral letal (DOL_{50}) = 3 mg/ Kg. A dose oral que se mostra letal para 50 % da população de animais testados é chamada de DOL_{50} da substância. De acordo com a Organização Mundial da Saúde e com a Agência de Proteção ao Ambiente, pesticidas com valores de DOL_{50} menores que 5 mg/ Kg são considerados extremamente perigosos, que é o caso do EPT (BAIRD; CANN, 2011).

Figura 10. Estrutura química do EPT.



Além de ser muito tóxico, ele é um dos pesticidas mais utilizados na agricultura, embora sua utilização seja proibida em muitos países, ele é largamente utilizado em países em desenvolvimento. Portanto, para a proteção da saúde humana e controle da poluição, é de fundamental importância o desenvolvimento de metodologias para determinação desse composto em diferentes tipos de amostras.

Várias técnicas são utilizados para detecção e quantificação dos organofosforados EPT ou metil-paration (MPT, estrutura semelhante ao EPT, exceto pelo grupo metil, ver na Figura 10) dentre eles destacam-se a cromatografia gasosa (LI et al., 2016)(YU et al., 2016), cromatografia líquida (SEEBUNRUENG; SANTALADCHAIYAKIT; SRIJARANAI, 2014), eletroforese capilar (TANG et al., 2015), imunoensaio (ZENG et al., 2007), e os métodos eletroquímicos.

A seguir, encontra-se um breve relato de alguns trabalhos sobre a determinação eletroquímica do EPT ou MPT, realizados nos últimos dois anos.

ReddyPrasad e colaboradores desenvolveram um sensor para detecção de MPT, modificando a superfície do GCE com um nanocompósito contendo óxido de zircônio e *dots* de carbono. Para a determinação do pesticida foi empregada a técnica de voltametria de redissolução adsorptiva e uma solução de tampão ácido acético/acetato de sódio (pH 4,0) foi usada como eletrólito suporte. Sob as condições otimizadas, a corrente de pico do MPT respondeu linearmente com o aumento de sua concentração na faixa de $0,2 \text{ ng mL}^{-1}$ – 48 ng mL^{-1} e um LD de $0,056 \text{ ng mL}^{-1}$ foi obtido. O sensor foi aplicado em amostras de arroz com recuperação na faixa de 99,80% – 100% (REDDYPRASAD et al.; 2015).

Fu e colaboradores modificaram a superfície do GCE com nanotubos de carbono, NPs de ouro e β -ciclodextrina e aplicaram na determinação de MPT usando Ads-SWV. O sensor demonstrou resposta linear em função da concentração de MPT em uma faixa linear que foi de $2,0 \text{ nmol L}^{-1}$ a 80 nmol L^{-1} e um LD de $0,1 \text{ nmol L}^{-1}$. Por fim, o sensor foi aplicado em amostras de água de rio e torneira e a recuperação obtida foi na faixa de 92,3% – 109,6% (FU et al.; 2015).

Yao e colaboradores desenvolveram um sensor eletroquímico, no qual a superfície do GCE foi modificada com nanotubos de carbono funcionalizados para análise de traços de MPT em amostras de vegetais. A curva de calibração obtida por DPV, em solução de tampão fosfato salino $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 6,0) apresentou-se linear em duas regiões, sendo a primeira região para as concentrações no intervalo de $0,002 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$

– 0,02 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e a segunda de 0,02 $\mu\text{g mL}^{-1}$ – 17,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O LD obtido foi de 0,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para a primeira região. O sensor foi aplicado para a análise de vegetais e as porcentagens de recuperação variaram entre 92,4% e 107,1% (YAO et al., 2014).

Zhu e colaboradores contruíram um sensor para o MPT modificando a superfície do GCE com um nanocompósito contendo grafeno e ouro. A curva de calibração foi construída utilizando a técnica de SWV e tampão fosfato salino 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) como eletrólito suporte. Duas faixas lineares foram encontradas: 10 – 500 ng mL⁻¹ e 750 – 4000 ng mL⁻¹. O LD obtido foi de 0,82 ng mL⁻¹ para a primeira faixa. O sensor foi aplicado para detecção de MPT em água de torneira e na fruta kiwi. A recuperação encontrada foi na faixa de 78,0% até 107% (ZHU et al., 2014).

Xue e colaboradores desenvolveram um sensor de polímero molecularmente impresso para a detecção do MPT por CV. Sob condições otimizadas, a curva de calibração apresentou linearidade na faixa de 0,1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ – 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ com um LD de 0,01 $\mu\text{g mL}^{-1}$. O sensor desenvolvido apresentou boa aplicabilidade na determinação do pesticida em amostras de água de rio, com recuperação que abrangeu a faixa de 100, 5% a 103,4% (XUE et al., 2014).

Wu e colaboradores, também a partir da tecnologia de impressão molecular, desenvolveram um sensor enzimático para o MPT utilizando NPs de ouro e nanotubos de carbono. A técnica utilizada para o desenvolvimento da metodologia para a determinação do pesticida, foi a voltametria de varredura linear (do inglês *linear sweep voltammetry*-LSV). A curva de calibração obtida apresentou duas regiões lineares, sendo que a primeira foi de 0,1 ng mL⁻¹ até 1,1 ng mL⁻¹ e a segunda foi de 1,1 ng mL⁻¹ até 11,0 ng mL⁻¹. O LD encontrado foi de 0,08 ng mL⁻¹. O pesticida foi determinado em amostras de água destilada, água de toneira, maçã e pepino, e as porcentagens de recuperação ficaram entre 95,2 % e 105,7% (WU et al., 2014).

Outro trabalho recente para determinação de MPT foi desenvolvido por Li e colaboradores. Nesse trabalho os autores modificaram um GCE com um nanocompósito contendo grafeno, gadolínio e azul da prússia. A técnica utilizada foi a DPV. Sob condições otimizadas, a corrente do pico de redução aumentou proporcionalmente com a concentração do organosfosforado na faixa de 0,008 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$. O método proposto forneceu um LD de 1,0 nmol L⁻¹. O sensor desenvolvido foi aplicado na quantificação de MPT em amostras de água (LI et al., 2014).

Liu e colaboradores desenvolveram um biosensor para a detecção de MPT. O biosensor constitui-se basicamente de NPs de ouro misturadas a camadas de um sal de diazônio. A faixa linear obtida por SWV abrangeu concentrações de 0,2 a 100 ppb e o LD encontrado foi de 0,07 ppb (LIU; GUO; YIN, 2014).

Outro biossensor para MPT foi desenvolvido por Norouzi e colaboradores. O biossensor foi construído utilizando um CPE constituído de líquido iônico, grafeno, NPs de platina e grafite. Sob esse EPC modificado foi colocado um filme polimérico contendo NPs de ouro e DNA. Os resultados mostraram que a resposta do biossensor foi proporcional a concentração do organofosforado na faixa de 10 – 300 nmol L⁻¹ e um LD de 1,3 nmol L⁻¹ foi alcançado (NOROUZI et al., 2014).

Sensores para o paration que utilizam AgNPs também são encontrados na literatura. Kumaravel e Chandrasekaran utilizaram AgNPs no sensor desenvolvido por eles para a detecção eletroquímica de EPT e MPT. Nesse trabalho, os autores modificaram a superfície de um GCE com um compósito de AgNPs e náfon. O compósito foi depositado eletroquimicamente, aplicando-se um potencial de -1,0 V por 2 minutos no GCE que estava imerso em uma solução contendo nafion e nitrato de prata sob agitação. A morfologia da superfície do GCE modificado foi caracterizada por SEM, onde as imagens mostraram a importância do polímero náfon para obtenção de um filme uniforme, pois quando este não foi depositado juntamente com as NPs, as AgNPs mostraram-se aglomeradas e um filme não uniforme foi obtido. Para determinar o tamanho das AgNPs foi utilizada a técnica de difração de raio X, onde encontrou-se que o tamanho era inferior a 50 nm. O eletrodo modificado melhorou a resposta de corrente catódica para os pesticidas. Por DPV foi construída uma curva de calibração para os dois pesticidas. A resposta de corrente variou proporcionalmente com as concentrações dos organofosforados na faixa de 0,300 até 1,444 µmol L⁻¹ para o MPT (LD = 0,087 µmol L⁻¹) e 0,103 até 0,618 µmol L⁻¹ para o EPT (LD = 0,083 µmol L⁻¹) (KUMARAVEL; CHANDRASEKARAN, 2010).

Bian e colaboradores também utilizaram AgNPs juntamente com um tipo específico de calixareno para construir um sensor para MPT. Os autores utilizaram esses dois materiais para combinar as propriedades catalíticas das AgNPs e a propriedade da molécula de calixareno possuir uma estrutura do tipo hospedeira. O eletrodo modificado foi caracterizado por espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X,

espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier, SEM e EIS e todas as caracterizações comprovaram a modificação da superfície do GCE. A DPV foi a técnica escolhida e o tampão fosfato salino (pH 7,4) foi utilizado como eletrólito suporte para construir a curva de calibração para o pesticida. O MPT apresentou um pico de redução bem definido em $-0,70$ V e a corrente aumentou linearmente com a concentração na faixa de $0,01 - 80 \mu\text{mol L}^{-1}$, com um LD de $4,0 \text{ nmol L}^{-1}$. O sensor foi utilizado para determinação em pera, e as porcentagens de recuperações obtidas foram de 98% até 102,1% (BIAN; LI; LI, 2010).

Alguns trabalhos encontrados na literatura também utilizam a quitosana na modificação do eletrodo para detecção do pesticida EPT. Como por exemplo o sensor desenvolvido por Yazhen e colaboradores para detecção do MPT. Os autores modificaram o GCE com um compósito contendo negro de acetileno e quitosana. A caracterização desse eletrodo, demonstrou que a quitosana ajudou a formar um filme mais uniforme na superfície do GCE, sem aglomerações e com uma estrutura nanoporosa, quando comparado ao filme composto apenas de negro de acetileno. Para determinação do MPT, os autores utilizaram a técnica de DPV, onde a curva de calibração obtida foi linear na faixa de $2,0 \times 10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ até $1,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ na qual um LD de $2,0 \text{ nmol L}^{-1}$ foi obtido. O sensor foi aplicado para determinação do organofosforado em amostras de alface (YAZHEN et al., 2010).

Qu e colaboradores também utilizaram a quitosana na confecção de um sensor para detecção de traços de inseticidas organofosforados, em particular o EPT. Os autores aplicaram o polímero para estabilizar as NPs de ouro e óxido de titânio (Au-TiO_2) que foram utilizadas na modificação da superfície do GCE. Para fins de determinação, foi utilizada a técnica de DPV, onde a redução do EPT em tampão fosfato salino (pH 5,0) como eletrólito suporte foi investigada. O pesticida apresentou um pico de redução bem definido em $-0,575$ V, e a resposta da corrente aumentou linearmente com o aumento da concentração (faixa linear $1,0 \text{ ng mL}^{-1}$ até $7,0 \mu\text{g mL}^{-1}$). Um LD de $0,5 \text{ ng mL}^{-1}$ foi obtido. O sensor foi aplicado para determinação do organofosforado em amostras de cebola, repolho e alface (QU et al., 2008).

Jin e colaboradores utilizaram a quitosana na forma de nanofibras para estabilizar NPs de ouro, e assim construir um sensor para o MPT. Esse compósito foi caracterizado por SEM e TEM, e as imagens revelaram que as fibras de quitosana tiveram um tamanho de aproximadamente 100 nm e serviram de suporte para as NPs de ouro. O

nanomaterial foi utilizado para modificar a superfície do diamante dopado com boro (do inglês *boron doped diamond electrode* – BDDE) e esse novo sensor foi aplicado para determinação de MP em amostras de suco de maçã, utilizando a técnica de DPV e tampão fosfato salino (pH 5,9) como eletrólito suporte. A resposta de corrente do sensor aumentou linearmente com a concentração do pesticida na faixa de 10 – 200 $\mu\text{mol L}^{-1}$ com um LD de 0,80 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (JIN; LIU; WEI, 2013).

Em 2012, Yang e colaboradores eletrodepositaram na superfície do GCE um nanocompósito contendo grafeno e quitosana para aplicar na detecção de MPT. Nesse trabalho, os autores utilizaram a quitosana para unir as propriedades de boa biocompatibilidade e adsorção do polímero com as propriedades de boa condutividade e grande área superficial do grafeno. A eletrodeposição do nanocompósito na superfície do GCE foi comprovada por imagens de SEM e TEM. Nesse trabalho, os autores desenvolveram uma metodologia para detecção de MPT utilizando a SWV, utilizando tampão ácido acético/acetato de sódio (pH 5,2) como eletrólito suporte. A corrente do pico de oxidação do pesticida aumentou linearmente com concentração na faixa de 4,0 a 400 ng mL^{-1} e um LD de 0,8 ng mL^{-1} foi obtido (YANG et al., 2012).

CAPÍTULO 2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O principal objetivo deste trabalho foi preparar, caracterizar e aplicar um GCE modificado com AgNPs estabilizadas em quitosana para determinação de nitrocompostos em amostras de água e alimentos.

2.2 Objetivos específicos

- Preparar a suspensão de AgNPs estabilizadas em quitosana;
- Modificar a superfície do GCE com a suspensão de NPs;
- Caracterizar as NPs obtidas e a superfície do GCE modificado;
- Testar os sensores para os nitrocompostos;
- Verificar a estabilidade das modificações efetuadas nas superfícies dos eletrodos;
- Comparar as respostas obtidas no eletrodo modificado com as do GCE quanto à sensibilidade e qualidade do sinal analítico;
- Investigar eletroquimicamente o processo de redução dos nitrocompostos sobre a superfície do eletrodo modificado.
- Escolher a técnica voltamétrica mais sensível para o desenvolvimento da metodologia eletroanalítica;
- Otimizar os parâmetros experimentais da técnica escolhida;
- Utilizar o sensor desenvolvido para determinação dos nitrocompostos que apresentarem resposta eletroquímica;
- Avaliar a repetibilidade do GCE modificado;
- Selecionar amostras de água e alimentos, para aplicação do sensor desenvolvido;
- Aplicar um método comparativo para verificar a concordância das respostas obtidas com o eletrodo modificado;
- Validar os resultados obtidos com cálculos estatísticos.

CAPÍTULO 3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes e soluções

Reagentes de grau analítico foram obtidos comercialmente e usados no preparo de soluções, sem tratamento adicional para purificação.

Para o preparo das soluções, utilizou-se água ultrapura obtida em um sistema Millipore (Bedford, MA, EUA), com resistividade de 18,2 M Ω cm.

Soluções tampão ácido acético/acetato de sódio, Britton-Robinson, McIlvaine, foram preparadas na concentração de 0,1 mol L⁻¹, utilizando reagentes obtidos da Sigma-Aldrich. Os reagentes utilizados no preparo das soluções tampão foram: ácido acético (CH₃COOH), acetato de sódio (NaCH₃COO), ácido bórico (H₃BO₃), ácido fosfórico (H₃PO₄), fosfato dissódico (Na₂HPO₄), ácido cítrico (C₆H₈O₇). Os diferentes valores de pH das soluções tampão utilizadas foram ajustados com soluções de HCl ou NaOH 0,5 mol L⁻¹.

Soluções estoque de 4-NF, 3-NF, 2-NF, PDM e EPT foram preparadas pela dissolução destes reagentes da marca Sigma-Aldrich em etanol absoluto. As soluções foram armazenadas sob refrigeração em aproximadamente 5° C por no máximo 90 dias e mostraram-se estáveis nestas condições. Diluições com etanol até as concentrações desejadas foram preparadas antes das análises, partindo-se da solução estoque ou pela adição de alíquotas da solução estoque diretamente na célula eletroquímica.

3.2 Instrumentação

As medidas voltamétricas foram realizadas em um potenciostato compacto EmStat² (Palm Instruments BV, Holanda) acoplado a um computador pessoal com o *software* PStTrace (versão 2.5.2) para aquisição e processamento dos dados. Utilizou-se uma célula eletroquímica de três eletrodos, contendo o sensor nAg-quitosana/GCE como eletrodo de trabalho, um eletrodo de Ag/AgCl saturado com KCl 3,0 mol L⁻¹ como eletrodo de referência e uma placa de platina como eletrodo auxiliar.

Um ultrassom UNIQUE (UNIQUE, São Paulo, Brasil) modelo UltraCleaner 800 foi usado para auxiliar no preparo de soluções e na

limpeza do GCE. As medidas de pH foram realizadas utilizando um pHmetro da marca HANNA modelo HI 2221 (HANNA Instruments Inc., Woonsocket, EUA), além de um agitador magnético *IKA* modelo *IKA lab disc* (IKA-Werke GmbH & Co.KG, Staufen, Alemanha) para agitar a solução na célula eletroquímica.

Para caracterização da dispersão de nAg-quitosana, a banda plasmônica foi registrada em uma faixa de 200 a 800 nm utilizando um espectrofotômetro ultravioleta- visível Agilent Cary 60 (Agilent Technologies, EUA). Esse espectrofotômetro também foi utilizado para realizar o método comparativo para a PDM e para o EPT. Tais medidas foram realizadas no Laboratório de Biossensores (LaBios-UFSC).

A caracterização por EIS foi realizada em um potenciostato/galvanostato Autolab PGSTAT128N (Eco Chemie, Holanda), conectado a um *software* de processamento de dados (GPES, versão 4.9.007, Eco Chemie). Os espectros de EIS foram obtidos em KCl 0,1 mol L⁻¹ contendo K₃[(Fe(CN)₆]/K₄[(Fe(CN)₆] 5,0 mmol L⁻¹ em um circuito aberto, amplitude de 5 mV e a faixa de frequência de 0,1 a 100 000 Hz. Tais medidas foram realizadas no Laboratório de Biossensores (LaBios-UFSC).

Imagens de TEM foram obtidas em um microscópio JEOL JEM -2100 operando em 100 kV. Para preparação das amostras, a dispersão de nAg-quitosana foi gotejada sobre uma grade de cobre revestida com carbono (300 mesh) e mantido sob vácuo por 24 h. A distribuição e tamanho das NPs foi estimado usando o *software* ImageJ.

A morfologia da superfície do nAg-quitosana/GCE foi analisada através de imagens SEM- FEG obtidas usando um microscópio JEOL JSM-6701F. As análises de TEM e SEM foram realizadas no Laboratório Central de Microscopia Eletrônica (LCME-UFSC).

3.3 Síntese das nanopartículas de prata

As AgNPs estabilizadas no polímero quitosana foram preparadas da seguinte forma: uma quantia de 0,20 g de quitosana foi dissolvida em 10 mL de ácido acético 20 mmol L⁻¹. Essa solução foi agitada de um dia para o outro até a obtenção de uma solução homogênea.

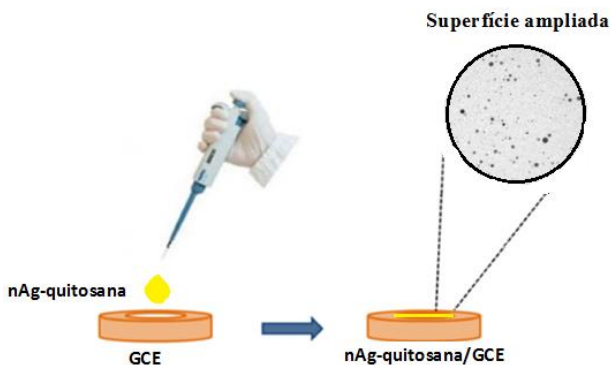
Depois, 3 mL dessa solução, 150 µL de nitrato de prata (AgNO₃) 20 mmol L⁻¹ e 180 µL de boro hidreto de sódio (NaBH₄) 20 mmol L⁻¹ foram misturados. O NaBH₄ foi adicionado para reduzir os íons prata

para NPs. A cor da dispersão mudou de transparente para amarelo, indicando a formação das AgNPs.

3.4 Preparação do sensor nAg-quitosana/GCE

Previamente, a superfície do GCE foi polida em alumina ($0,05\ \mu\text{m}$) sobre papel feltro com movimentos em forma de “oito”. Para remoção da alumina residual, o eletrodo foi lavado com água destilada e sonicado por 3 minutos. Uma alíquota de $3\ \mu\text{L}$ da suspensão de nAg-quitosana foi gotejada sobre a superfície do GCE. Em seguida, o eletrodo foi deixado em uma estufa com a temperatura de $40\ ^\circ\text{C}$ por aproximadamente 10 minutos para evaporação total do solvente. O esquema da modificação do eletrodo é mostrado na Figura 11.

Figura 11. Esquema da preparação do nAg-quitosana/GCE.



3.5 Medidas eletroquímicas

Todas as medidas eletroquímicas foram realizadas à temperatura ambiente ($25\ ^\circ\text{C}$) em uma célula contendo $15,0\ \text{mL}$ de eletrólito suporte e antes de cada experimento, todas as soluções foram desoxigenadas com nitrogênio durante 10 minutos. Detalhes maiores sobre as medidas eletroquímicas serão exibidos na parte de resultados e discussão desse trabalho.

3.6 Preparação das amostras para as determinações

3.6.1 Determinação pelo método eletroquímico

As descrições abaixo relatam os procedimentos de preparo das amostras utilizadas nesse trabalho para realizar as determinações eletroquímicas.

3.6.1.1 Pendimetalina

Para realizar a determinação de PDM foram utilizadas duas amostras de água (mineral e de torneira) obtidas na região de Florianópolis, SC, Brasil.

Para o preparo das amostras, foram utilizados dois balões volumétricos de 10 mL. Em cada balão, foram adicionados 1000 μL de uma solução padrão de PDM 0,5 mmol L^{-1} e em seguida o volume foi completado com água mineral no primeiro balão e no segundo balão com água de torneira.

Para realizar a determinação, efetuou-se adição de 100 μL da amostra de água mineral e 180 μL da amostra de água de torneira à célula eletroquímica contendo o eletrólito suporte.

3.6.1.2 Etil paration

Para realizar a determinação de EPT foi utilizada uma amostra de alface e uma amostra de mel, ambas adquiridas em um supermercado da região de Florianópolis, SC, Brasil. As amostras foram preparadas da seguinte maneira:

Amostra de alface: algumas folhas de alface foram lavadas com água destilada e secas a uma temperatura de 25 °C. Depois de secas, 10 g dessa amostra foram pesados em uma balança analítica. A extração do organofosforado dessa matriz foi realizada pela trituração da amostra pesada em um liquidificador com 100 mL de etanol absoluto, por um período de 5 minutos. Depois, transferiu-se essa solução para um béquer e a solução foi agitada de um dia para o outro.

Os extratos etanólicos foram filtrados em um papel de porosidade média (25 μm) e transferidos para um balão volumétrico de 200 mL, o qual foi avolumado com etanol absoluto (amostra de alface 1).

Depois, foi retirada uma alíquota de 1000 μL da amostra de alface 1 e transferida para um balão de 10 mL, onde completou-se o volume com etanol (amostra de alface 2).

A amostra de alface 3 foi preparada da mesma maneira que a 2, porém dessa vez foi adicionado também 1000 μL de EPT 4,0 mmol L^{-1} .

Para realizar a determinação, efetuou-se adição de 100 μL da amostra de alface 3 à célula eletroquímica contendo o eletrólito suporte.

Amostra de mel: Foram pesados 5,11 g de mel e em seguida a essa quantia foram adicionadas 25 mL de etanol absoluto. A solução foi mantida em agitação de um dia para o outro.

Essa solução foi filtrada 3 vezes em um papel de porosidade média (25 μm) e depois o extrato obtido foi transferido para um balão de 50 mL, no qual o volume foi completado com álcool (amostra de mel 1).

Posteriormente, foi retirada uma alíquota de 1000 μL da amostra de mel 1 e transferida para um balão de 10 mL, onde completou-se o volume com etanol (amostra de mel 2).

A amostra de mel 3 foi preparada da mesma maneira que a 2, porém dessa vez foi adicionado também 1000 μL de EPT 4,0 mmol L^{-1} .

Para realizar a determinação, efetuou-se adição de 50 μL da amostra de mel 3 à célula eletroquímica contendo o eletrólito suporte.

3.6.2 Determinação pelo método comparativo

As medidas de espectroscopia UV-vis foram realizadas em uma faixa de comprimento de onda de 200 nm a 600 nm usando o espectrofotômetro Agilent Cary 60 (Agilent Technologies, EUA). Uma célula de quartzo com caminho óptico de 1,0 cm. O comprimento de onda máximo de absorbância das soluções contendo diferentes concentrações foi de 420 nm para o PDM e 275 nm para o EPT.

CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização das nanopartículas de prata e caracterização morfológica e eletroquímica do sensor

Como mostrado na parte experimental (seção 3.3), as AgNPs estabilizadas em quitosana foram sintetizadas utilizando NaBH_4 como agente redutor. Imediatamente após a adição do agente redutor, a solução passou de transparente para coloração amarela.

A mudança na coloração inicial da solução foi o primeiro indício de que houve a formação de NPs metálicas de prata. A Figura 12 mostra a mudança na coloração da solução antes (transparente) e após a formação das NPs (cor amarela). A coloração das suspensões está relacionada com tamanho das NPs formadas (TOMA; BONIFÁCIO, 2005). Nessa coloração, as AgNPs preparadas pelo método de redução com NaBH_4 possuem um tamanho de aproximadamente 12 nm segundo a literatura (MULFINGER et al., 2007).

É importante comentar que a dispersão sintetizada nesse trabalho permanecia estável por um período de no máximo dois dias. Após esse tempo, a coloração da dispersão tornava-se mais escura, devido a agregação das NPs. Então, para cada dia de trabalho, era necessário preparar uma nova dispersão, o que não foi nem um pouco dispendioso, devido ao fácil e rápido preparo da mesma.

Figura 12. Coloração das soluções após a formação das AgNPs.

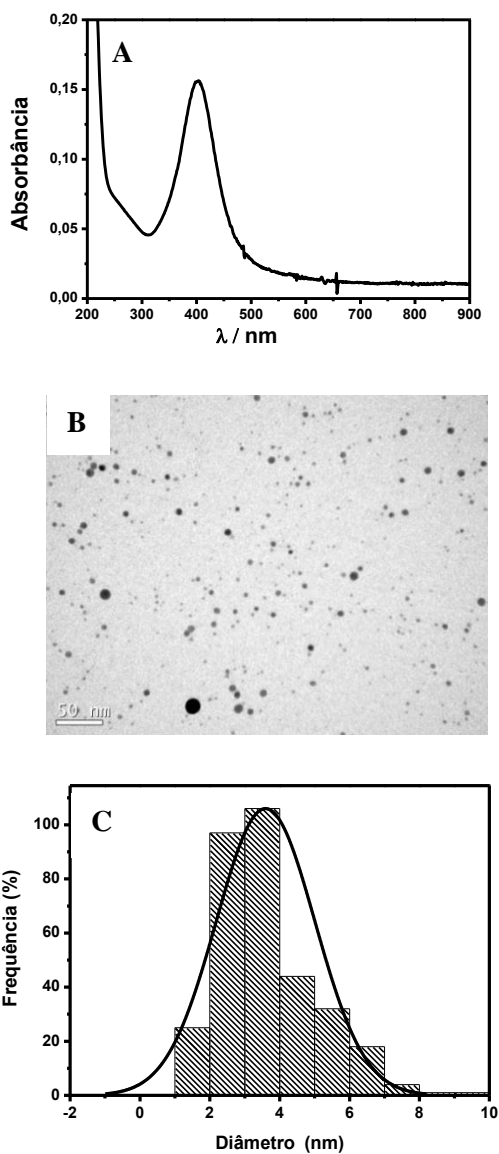


Após a preparação, a suspensão de NPs foi caracterizada por UV-vis e TEM. Como mencionado na seção 1.2, as AgNPs apresentam uma banda de absorção característica de ressonância plasmônica, a qual pode ser facilmente detectada por espectroscopia UV-vis.

O espectro UV-vis para a dispersão de AgNPs está mostrado na Figura 13A. Nele foi possível detectar uma banda estreita com um máximo de absorbância em 400 nm e com largura do pico a meia altura de 66 nm. Segundo Mulfinger e colaboradores, as AgNPs preparadas pelo método de redução com NaBH_4 exibem uma banda em 400 nm, na qual a largura do pico a meia altura possui um valor entre 50 – 70 nm (MULFINGER et al., 2007). Sendo assim, os resultados obtidos concordam com os da literatura.

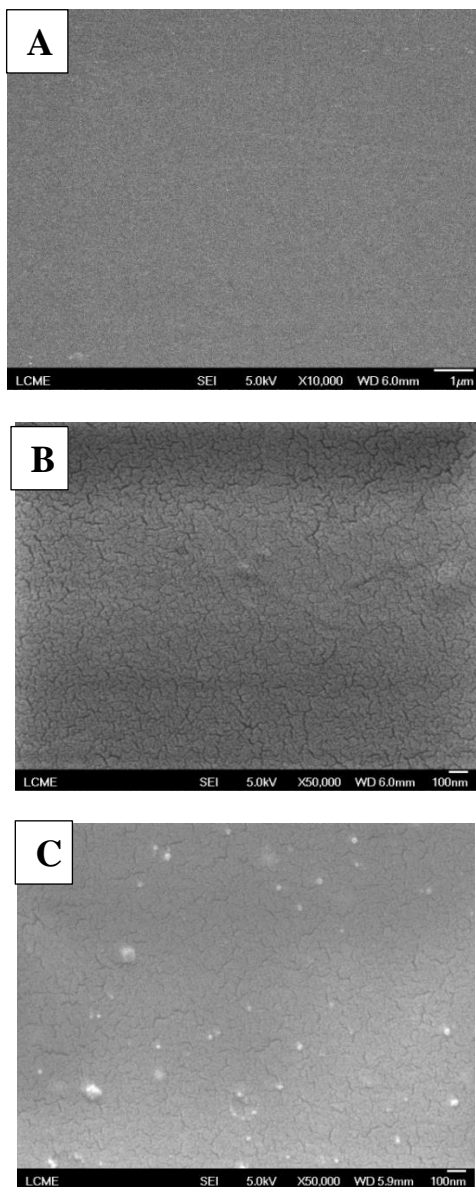
As imagens obtidas por TEM (Figura 13B) mostram que as AgNPs possuem um formato esférico e encontram-se bem dispersas no polímero quitosana. O histograma de distribuição do tamanho das NPs (Figura 13C) mostrou que o diâmetro médio das partículas obtidas foi de 3,4 nm.

Figura 13. (A) Espectro UV-vis; (B) micrografia de TEM e (C) histograma de distribuição do tamanho das AgNPs.



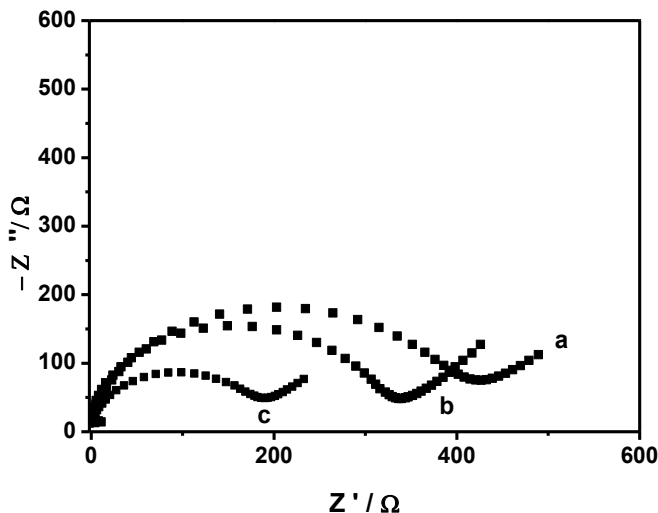
A morfologia do filme sobre o GCE com e sem a dispersão de AgNPs foi investigada por imagens de SEM-FEG. A Figura 14A mostra a superfície do GCE sem modificação alguma (GCE), em B tem-se o GCE recoberto apenas com o polímero quitosana (quitosana-GCE) e em C, a superfície do GCE está modificada com a suspensão das AgNPs estabilizadas no polímero (nAg-quitosana/GCE). Diferentes morfologias foram observadas. Concluiu-se que no GCE sem modificação, nenhuma irregularidade na superfície foi constatada, com o recobrimento apenas com a quitosana, observou-se alteração significativa na morfologia do GCE. Por fim, constatou-se a presença das AgNPs no formato esférico na superfície do GCE recoberto com a suspensão de NPs e quitosana. Esses resultados nos indicam que apesar da formação de alguns agregados, as AgNPs estabilizadas no polímero, permanecem na sua grande maioria, em escala nanométrica e possuem uma boa aderência na superfície do GCE, mesmo após a secagem do filme.

Figura 14. Imagens de SEM-FEG obtidas para: (A) superfície do GCE , (B) superfície do GCE modificado com quitosana, (C) superfície do GCE modificado com a dispersão de AgNPs estabilizadas em quitosana.



A EIS foi empregada para investigar as propriedades da superfície do GCE durante a sua modificação. A Figura 15 mostra os diagramas de Nyquist (Z'' vs. Z') para (a) GCE, (b) quitosana/GCE e (c) nAg-quitosana/GCE na presença do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$. Os valores de resistência a transferência de carga (R_{tc}) obtidos foram: 426 Ω para o GCE, 340 Ω para o quitosana/GCE, 193 Ω para o sensor nAg-quitosana/GCE. Conclui-se que a modificação do GCE somente com o polímero quitosana provoca uma diminuição da R_{tc} , esse comportamento já foi observado por outros autores, e possivelmente está associado as cargas positivas presentes na estrutura da quitosana que favorecem o acesso do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ à superfície do eletrodo (YU et al., 2015). Por fim, a modificação do GCE com a suspensão de NPs estabilizadas em quitosana, diminuiu ainda mais a R_{tc} , o que pode ser explicado pela ótima condutividade da prata nanoparticulada (BIAN; LI; LI, 2010).

Figura 15. EIS para: (a) GCE; (b) quitosana/GCE e (c) nAg-quitosana/GCE.



Depois de preparadas e caracterizadas, tanto a dispersão contendo as AgNPs quanto o GCE modificado, o sensor fabricado foi inicialmente aplicado para determinação eletroanalítica de 4-NF, que será discutido nos tópicos adiantes.

4.2 Estudos com o 4-nitrofenol

Os estudos eletroquímicos realizados com o 4-NF, bem como com a PDM e EPT (que serão discutidos mais a frente) foram feitos utilizando-se o pico de redução irreversível do grupo nitro (mecanismo já discutido na seção 1.5.1), visto que a prata oxida em potenciais positivos e a varredura de potencial nessa região ocasionaria a perda do filme.

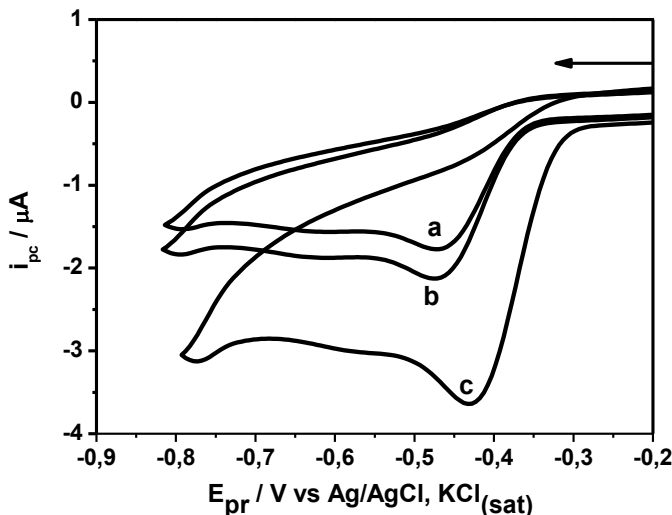
4.2.1 Resposta eletroquímica do 4-NF sobre a superfície do nAg-quitosana/GCE

A Figura 16 exibe os voltamogramas cíclicos obtidos para o 4-NF 0,1 mmol L⁻¹ em solução tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) sobre a superfície do GCE sem modificação, modificado apenas com a quitosana e sobre a superfície do nAg-quitosana/GCE. Os

voltamogramas cíclicos foram obtidos variando-se o potencial na faixa de 0,0 V a -0,8 V voltando para 0,0 V a uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

Como pode ser observado na Figura 16– curva a , um pico de redução com valor de corrente catódica (i_{pc}) de $-1,11 \mu\text{A}$ e um valor de potencial de pico de redução (E_{pr}) de $-0,470 \text{ V}$ foi obtido com o GCE. Utilizando o quitosana/GCE, observa-se pouca diferença nos valores de i_{pc} ($-1,28 \mu\text{A}$) e de E_{pr} ($-0,470 \text{ V}$) (Figura 16– curva b) quando comparado a resposta no GCE sem modificação. Por fim, a resposta de corrente do 4-NF em nAg-quitosana/GCE apresentou uma diferença bastante significativa comparada aos demais eletrodos, não só na corrente, como também, no potencial. A i_{pc} obtida foi de $-2,50 \mu\text{A}$ e o $E_{pr} = -0,430 \text{ V}$ (Figura 16– curva c). Nota-se que o valor de i_{pc} mais que dobrou e houve um deslocamento de potencial para valores menos negativos em cerca de 40 mV quando comparado ao GCE sem modificação. Esses resultados comprovam claramente a atividade catalítica das AgNPs estabilizadas em quitosana na redução do 4-NF. Tal comportamento sobre a atividade catalítica das AgNPs já foi observado por outros autores (KUMARAVEL; CHANDRASEKARAN, 2010).

Figura 16. Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) GCE (b) quitosana/GCE (c) nAg-quitosana/GCE em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) na presença de 4-NF 0,1 mmol L⁻¹. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$



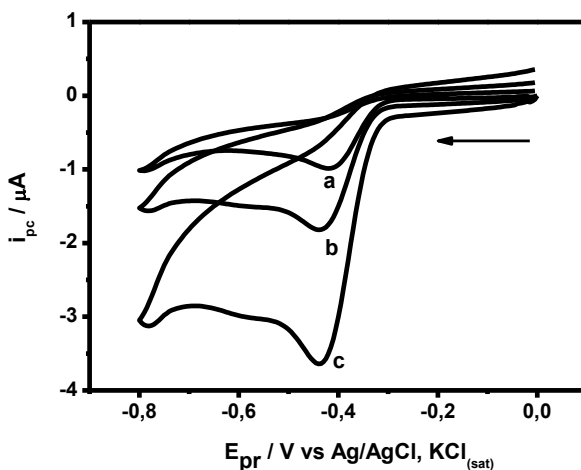
4.2.2 Influência do eletrólito suporte e do pH

A escolha do eletrólito suporte e do pH é um fator importante, visto que o comportamento da molécula a ser estudada é influenciado pelo meio em que se encontra (AGOSTINHO et al., 2004). Assim, inicialmente, a influência do eletrólito suporte sobre a resposta eletroquímica do 4-NF 0,1 mmol L⁻¹ foi investigada por CV em três soluções tampão diferentes: McIlvaine, ácido acético/acetato de sódio e Britton-Robinson, todos na concentração 0,1 mol L⁻¹ e pH 3,0 como mostra a Figura 17.

Os voltamogramas cíclicos foram obtidos na faixa de 0,0 V a -0,8 V voltando para 0,0 V a uma velocidade de varredura de 100 mV s⁻¹. De acordo com os resultados, em tampão McIlvaine (curva a) e tampão ácido acético/acetato de sódio (curva b), a resposta de corrente foi menor quando comparada com a resposta em tampão Britton-Robinson (curva c). Nesse eletrólito suporte, um pico voltamétrico bem definido foi observado em um potencial de -0,430 V com uma corrente

de $-2,5 \mu\text{A}$. Por esse motivo, o tampão Britton-Robinson foi escolhido como eletrólito suporte para realizar os estudos posteriores.

Figura 17. Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes eletrólitos suportes: (a) tampão Mcllvaine, (b) tampão ácido acético/acetato de sódio e (c) tampão Britton-Robinson para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de 4-NF $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$. Todas os eletrólitos suporte estão na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0). $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

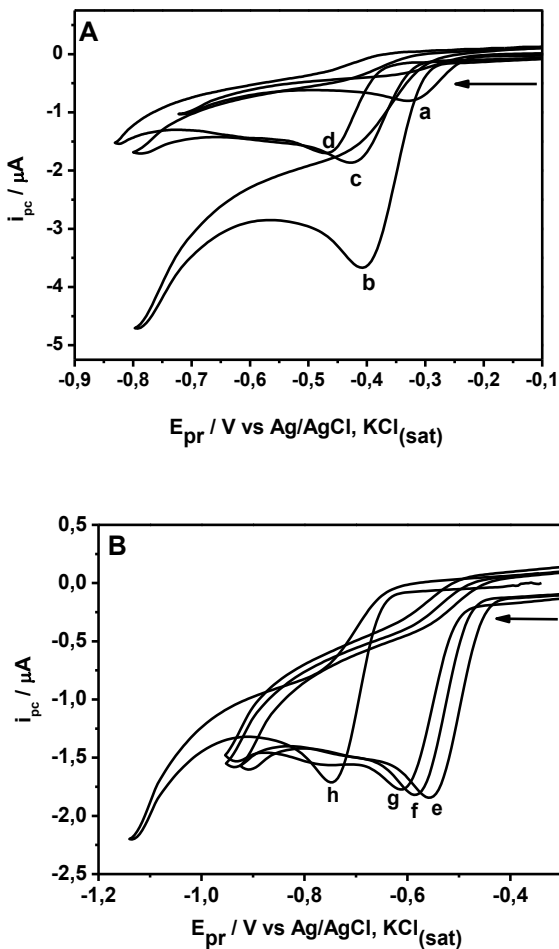


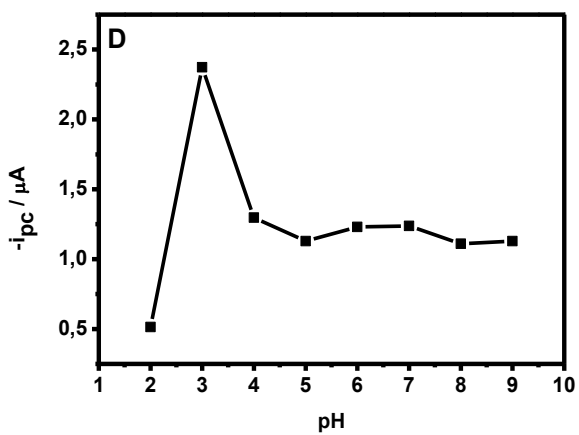
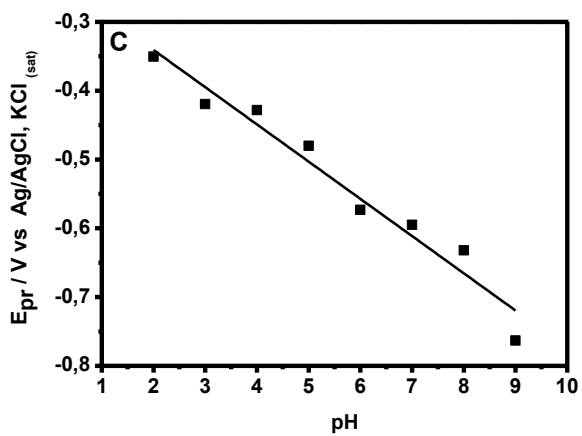
Posteriormente, o efeito do pH do eletrólito suporte na redução eletroquímica do 4-NF foi investigado em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em uma faixa de 2–9, como ilustrado na Figura 18.

Os voltamogramas cíclicos obtidos estão mostrados na Figura 18A e Figura 18B. Foi notado que o E_{pr} deslocou para valores mais negativos com o aumento do pH da solução (Figura 18C). O valor do coeficiente angular da reta obtida (-54 mV pH^{-1}) está condizente com o valor característico de processos que envolvem o mesmo número de prótons e elétrons nas reações (59 mV pH^{-1}) (BARD; FAULKNER, 2001).

A influência do pH do eletrólito suporte na i_{pc} do 4-NF é mostrada na Figura 18D. Claramente é observado que o maior valor de i_{pc} é obtido no pH 3,0. Para valores de pH acima de 3,0 a resposta de corrente diminui consideravelmente. Por apresentar um alto valor de i_{pc} aliado a um voltamograma que apresentou uma boa definição, o pH 3,0 foi escolhido para os estudos subsequentes.

Figura 18. Estudo do pH para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de 4-NF $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$: Voltamogramas cíclicos obtidos em (A) (a) pH 2,0; (b) pH 3,0; (c) pH 4,0; (d) pH 5,0; (B) (e) pH 6,0 ; (f) pH 7,0; (g) pH 8,0; (h) pH 9,0. Variação do (C) E_{pr} ; (D) i_{pc} em função do pH. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.





4.2.3 Influência da velocidade de varredura

Os voltamogramas cíclicos na Figura 19A mostram o comportamento eletroquímico do 4-NF 0,1 mmol L⁻¹ em solução tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 3,0) sobre o sensor nAg-quitosana/GCE em diferentes velocidades de varredura.

A influência da velocidade de varredura (ν) sobre a redução do 4-NF foi estudada em uma faixa de 5 – 250 mVs⁻¹. O potencial foi variado inicialmente de 0,0 V a -0,8 V e voltou de -0,8 V para 0,0 V, completando o ciclo. Os voltamogramas cíclicos são característicos de uma reação eletroquimicamente irreversível mostrando apenas um pico de redução, em um potencial de -0,40 V para a velocidade de 5 mV s⁻¹.

É possível observar nos voltamogramas cíclicos obtidos, que, a medida que se aumenta a ν , o valor de E_{pr} desloca para valores de potenciais mais negativos, variando de -0,400 V em 5 mV s⁻¹ até -0,455 V em 250 mV s⁻¹.

Como mencionado, E_{pr} deslocou para valores mais negativos com o aumento da ν , o que de acordo com a literatura é esperado para um processo irreversível (BARD; FAULKNER, 2001). Conforme a Teoria de Laviron, a relação do E_{pr} com o $\log \nu$ é dada de acordo com a equação (YIN et al., 2011):

$$E_p = \left(\frac{2,3RT}{\alpha nF} \right) \cdot \log \left(\frac{RTK_f}{\alpha nF} \right) - \left(\frac{2,3RT}{\alpha nF} \right) \log \nu$$

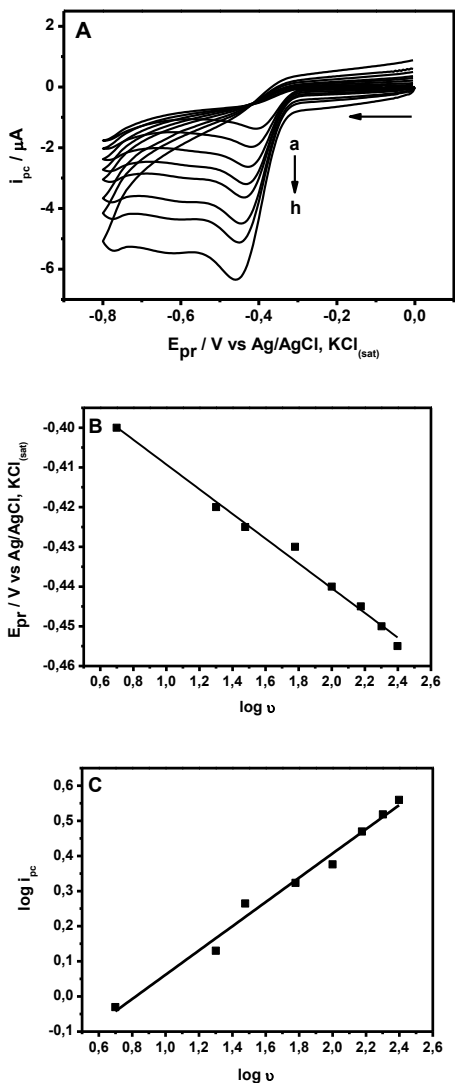
Equação 1

Na qual, R é a constante universal dos gases (8,314 J mol⁻¹ K⁻¹), T, a temperatura em (K), F, a constante de Faraday (96485 C mol⁻¹), K_f , a constante de velocidade da reação eletródica, α , o coeficiente de transferência eletrônica (0,5 para processos irreversíveis) e n, o número de mols de elétrons transferidos.

Através do gráfico E_{pr} em função do $\log \nu$ (Figura 19B) observamos uma relação linear de acordo com a equação $E_{pr}/V = -0,3781 - 0,0311 \log \nu$. Com base no valor do coeficiente angular (0,0311) e utilizando a equação acima, o número de elétrons participantes da redução do 4-NF foi calculado e o valor encontrado foi de 3,8. Então, podemos dizer que 4 elétrons estão envolvidos na redução e o pico voltamétrico pode ser atribuído a redução do grupo nitro a (4-hidroxilamino)fenol envolvendo $4e^-/4H^+$ o que concorda com os valores encontrados na literatura como já citado na seção 1.5.1.

Além disso, os valores de i_{pc} aumentaram com o aumento da velocidade. O gráfico $\log i_{pc}$ vs. $\log v$ (Figura 19C) mostrou uma relação linear e o coeficiente angular extraído da equação da reta foi de 0,35, indicando que o mecanismo da reação é controlado por um processo difusional (BARD; FAULKNER, 2001).

Figura 19. Estudo da velocidade de varredura para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de 4-NF $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0): (A) Voltamogramas cíclicos nas velocidades: (a) 5 mV s^{-1} ; (b) 20 mV s^{-1} ; (c) 30 mV s^{-1} ; (d) 60 mV s^{-1} ; (e) 100 mV s^{-1} ; (f) 150 mV s^{-1} ; (g) 200 mV s^{-1} ; (h) 250 mV s^{-1} ; (B) gráfico E_{pr} vs. $\log v$; (C) gráfico $\log i_{\text{pc}}$ vs. $\log v$.



4.2.4 Detecção eletroanalítica do 4-NF

Após estudado o comportamento eletroquímico de redução do 4-NF, a detecção por SWV foi realizada. Nos próximos tópicos serão discutidos a otimização dos parâmetros da SWV, a curva de calibração as características analíticas obtidas e a interferência dos outros isômeros na detecção do 4-NF.

4.2.5 Otimização dos parâmetros de onda quadrada

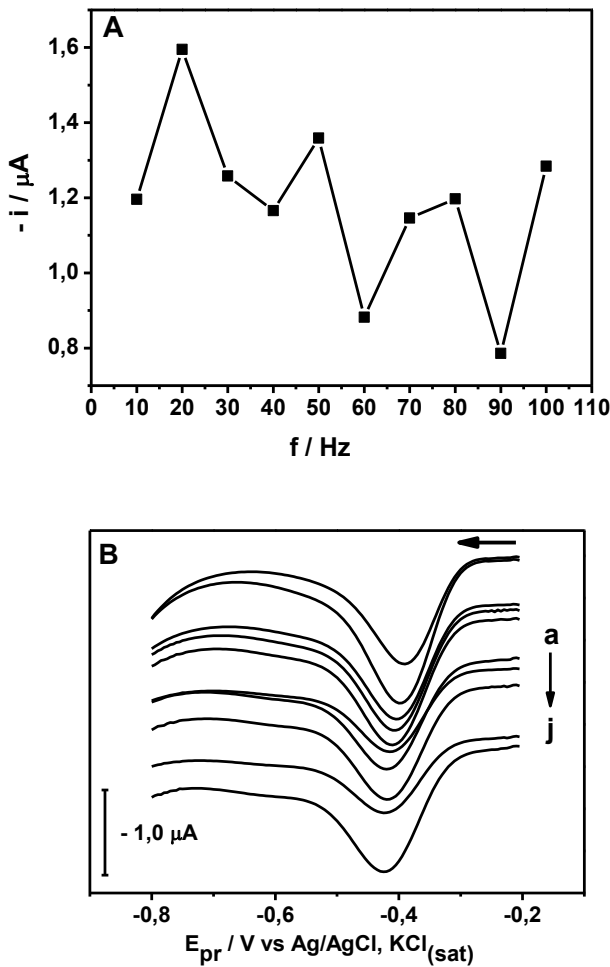
Visando avaliar o nAg-quitosana/GCE para a detecção de 4-NF, escolheu-se a técnica de SWV por ser considerada umas das técnicas de pulso mais sensíveis (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

Primeiramente, otimizou-se os parâmetros com o objetivo de se obter uma melhor resposta analítica, garantindo assim, uma maior sensibilidade. Os parâmetros investigados foram: frequência (f), amplitude (a) e incremento de potencial (ΔE s). Para escolher as melhores condições, levou-se em consideração uma boa definição voltamétrica aliada a uma boa resposta de corrente.

A otimização destes parâmetros foi realizada em 4-NF $1,50 \mu\text{mol L}^{-1}$ e, como eletrólito suporte, tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0). As faixas estudadas foram de 10 – 100 Hz para a f , 10 – 100 mV para a a e 1 – 5 mV para o ΔE s.

Na Figura 20 são mostrados os dados obtidos para diferentes valores de frequência, quando a e ΔE s foram mantidos constantes. Um maior valor de corrente foi obtido em 20 Hz e para valores maiores, nota-se um decréscimo na intensidade de corrente (Figura 20A). É importante ressaltar, que em frequências mais elevadas, um alargamento no pico voltamétrico torna-se evidente (Figura 20B). Assim, escolheu-se a frequência 20 Hz, para ser utilizada, pois nesse valor, o voltamograma apresentou uma excelente relação entre o perfil voltamétrico e a sensibilidade.

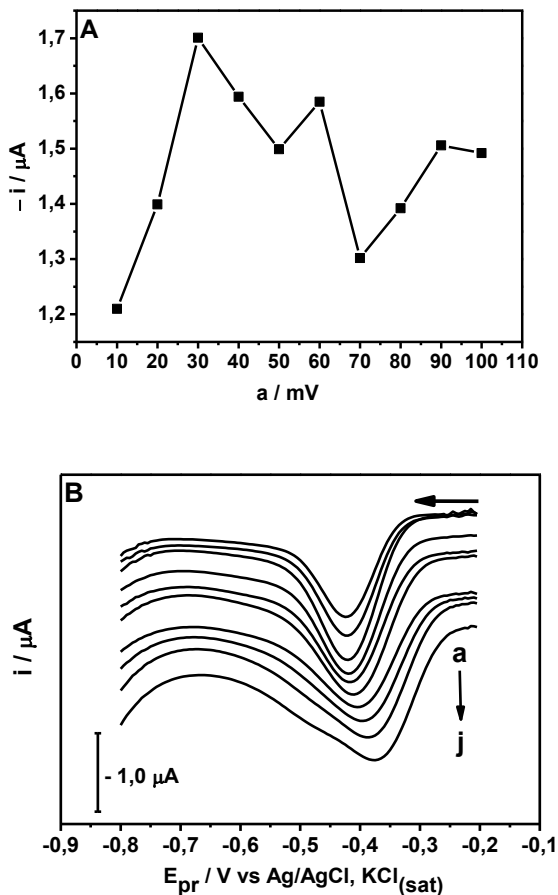
Figura 20. Dependência da corrente resultante com a variação da frequência para o 4-NF $1,50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) quando $a = 50 \text{ mV}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$. (A) gráfico de pontos (B) voltamogramas, onde $f =$ (a) = 10 Hz; (b) = 20 Hz; (c) = 30 Hz; (d) = 40 Hz; (e) = 50 Hz; (f) = 60 Hz; (g) = 70 Hz; (h) = 80 Hz; (i) = 90 Hz; (j) = 100 Hz.



A sensibilidade analítica gerada pela SWV para sistemas irreversíveis também é muito influenciada pela amplitude (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003). Na Figura 21 estão mostrados os dados referentes a otimização desse parâmetro, dessa vez, foram mantidos constantes a f e o ΔE_s . Observou-se um aumento da intensidade de corrente para o 4-NF até 30 mV e após esse valor a corrente diminuiu (Figura 21A). Na Figura 21B são mostrados os voltamogramas obtidos para cada amplitude e como resultado, observa-se que com o aumento desse parâmetro os voltamogramas apresentam uma pior definição e um deslocamento de potencial para valores menos negativos.

Como em 30 mV foi obtido o maior valor de corrente e também uma boa resolução de pico, esse foi o valor escolhido para os estudos seguintes.

Figura 21. Dependência da corrente resultante com a variação da amplitude para o 4-NF $1,50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) quando $f = 20 \text{ Hz}$ e $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$. (A) gráfico de pontos (B) voltamogramas, onde a = (a) = 10 mV ; (b) = 20 mV; (c) = 30 mV; (d) = 40 mV; (e) = 50 mV; (f) = 60 mV; (g) = 70 mV ; (h) = 80 mV; (i) = 90 mV; (j) = 100 mV.



O incremento é um parâmetro responsável pela definição da velocidade de variação de potencial. A velocidade de variação do potencial é o resultado do produto de f e ΔE_s . Assim, um alto valor de ΔE_s pode aumentar o sinal analítico e, melhorar a sensibilidade do método. No entanto, com incrementos superiores pode ocorrer problemas na resolução do voltamogramas, desta forma o incremento foi otimizado (DE SOUZA; MACHADO; AVACA, 2003).

Na Figura 22A observamos que o maior valor de corrente foi obtido quando foi utilizado o incremento de 5 mV. Como esperado, com o aumento do incremento não houve uma perda na resolução do voltamograma (Figura 22B). Por esse motivo, o incremento de 5 mV foi escolhido.

A Tabela 3 reúne os valores obtidos na otimização da técnica para detecção de 4-NF.

Figura 22. Dependência da corrente resultante com a variação do incremento para o 4-NF $1,50 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0) quando $f = 20 \text{ Hz}$ e $a = 30 \text{ mV}$. (A) gráfico de pontos (B) voltamogramas, onde $\Delta E_s = (a) = 1 \text{ mV}$; (b) = 2 mV ; (c) = 3 mV ; (d) = 4 mV ; (e) = 5 mV .

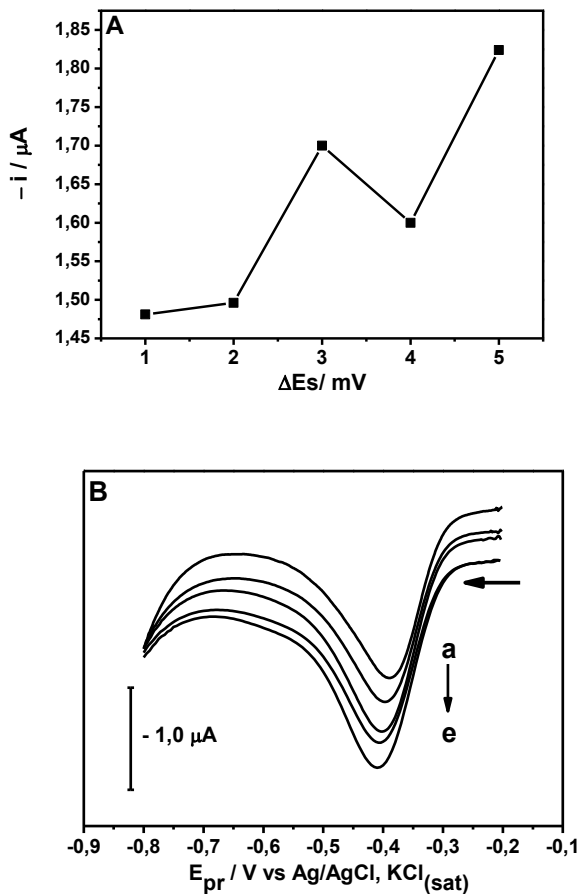


Tabela 3. Otimização dos parâmetros experimentais por SWV para análise de 4-NF utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE.

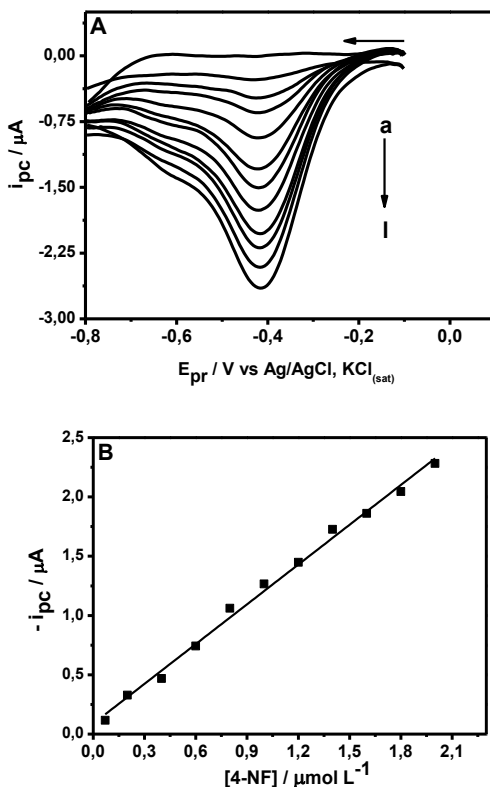
Parâmetro	Faixa	Valor estabelecido
Frequência (Hz)	10 – 100	20
Amplitude (mV)	10 – 100	30
Incremento (mV)	1 – 5	5

4.2.6 Construção da curva de calibração e características analíticas

Com os valores dos parâmetros ótimos estabelecidos, a curva de calibração foi obtida pela adição de alíquotas de uma solução padrão de 4-NF ao eletrólito suporte (tampão Britton-Robinson, pH 3,0), variando assim a concentração na célula eletroquímica. Os voltamogramas de onda quadrada foram obtidos e a i_{pc} foi registrada juntamente com o potencial de pico.

A Figura23A mostra os voltamogramas de onda quadrada para as diferentes concentrações de 4-NF. Um pico bem definido é observado em $-0,41$ V, cuja intensidade de corrente aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração de 4-NF no intervalo de $0,07 - 2,00$ $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Figura23B).

Figura 23. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos no sensor nAg-quitosana/GCE para 4-NF: (a) branco, (b) $0,07 \mu\text{mol L}^{-1}$, (c) $0,20 \mu\text{mol L}^{-1}$, (d) $0,40 \mu\text{mol L}^{-1}$, (e) $0,60 \mu\text{mol L}^{-1}$, (f) $0,80 \mu\text{mol L}^{-1}$, (g) $1,00 \mu\text{mol L}^{-1}$, (h) $1,20 \mu\text{mol L}^{-1}$, (i) $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$, (j) $1,60 \mu\text{mol L}^{-1}$, (k) $1,80 \mu\text{mol L}^{-1}$, (l) $2,00 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de calibração. Condições experimentais: $f = 20 \text{ Hz}$, $a = 30 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 5 \text{ mV}$, tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 3,0).



A linearidade da curva obtida pode ser verificada analisando o valor do quadrado do coeficiente de correlação (R^2). R^2 deve estar o mais próximo de 1 para mostrar que os resultados são realmente proporcionais à concentração do analito dentro de um dado intervalo

(RIBANI et al., 2004). A curva obtida apresentou a seguinte equação: $i_{pc}/\mu A = 0,088 + 1,12 [4-NF] / \mu mol L^{-1}$ com um R^2 igual 0,994, representando um bom ajuste linear.

O LD e o LQ representam a mais baixa concentração em que a substância possa ser detectada e quantificada com certa confiabilidade, respectivamente (RIBANI et al., 2004). Esses parâmetros podem ser obtidos com dados retirados da curva de calibração.

O LQ foi calculado pela:

$$LQ = 10 DP / a \quad \text{Equação 2}$$

Onde DP é o desvio padrão do coeficiente linear e a é o coeficiente angular. Assim, o valor calculado para o LQ foi: 280 nmol L^{-1} . Para encontrar o LD, foi utilizado o método visual, que consiste em utilizar a concentração referente ao primeiro ponto da curva, logo, o LD visual foi de 70 nmol L^{-1} .

A precisão das medidas pode ser avaliada por meio de análises de repetibilidade. Assim, avalia-se o quanto duas ou mais medidas estão em concordância quando repetidas sob condições definidas (RIBANI et al., 2004). A repetibilidade da corrente medida usando o sensor nAg-quitosana/GCE foi verificada na concentração de 4-NF 1,50 $\mu mol L^{-1}$. Utilizaram-se duas metodologias, interdia, na qual a medida de corrente para o 4-NF foi realizada durante 10 dias consecutivos, onde em cada dia era utilizado um novo sensor (preparado diariamente), e intradia, realizando-se 10 medidas no mesmo dia, utilizando um único sensor. Os desvios padrões relativos obtidos foram de 5,90% e 2,40%, para as análises interdia e intradia, respectivamente. As características analíticas extraídas da curva de calibração, juntamente com os ensaios de repetibilidade são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4. Características analíticas da curva de calibração do 4-NF.

Parâmetros	Valor
Potencial de pico (V)	-0,410
Faixa linear ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,07 – 2,0
Coefficiente de correlação (R^2)	0,994
Coefficiente angular ($\mu\text{A L } \mu\text{mol L}^{-1}$)	1,118
Desvio padrão do coeficiente angular ($\mu\text{A L } \mu\text{mol L}^{-1}$)	0,027
Intercepto (μA)	0,088
Desvio padrão do intercepto (μA)	0,032
Limite de detecção visual ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,070
Limite de quantificação ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,286
Repetibilidade de i (intradia) (%) ^{a,b}	2,40
Repetibilidade de i (interdia) (%) ^{a,b}	5,90

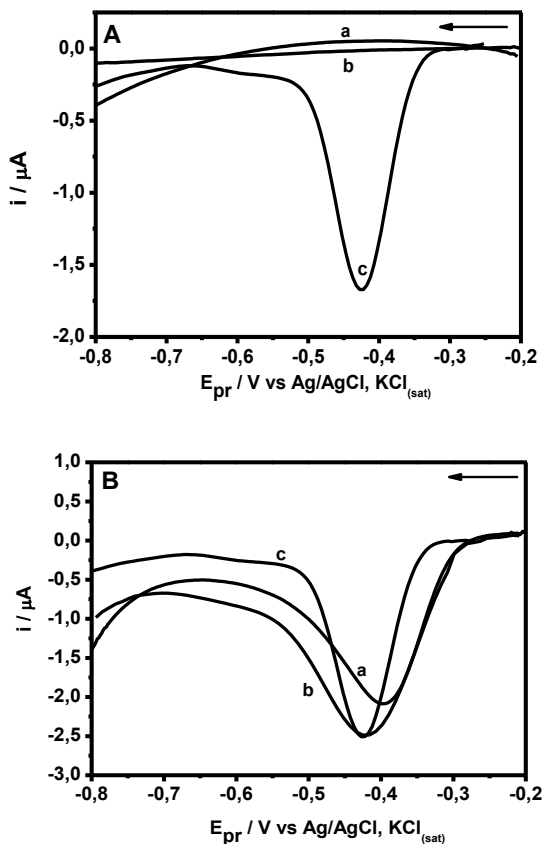
^aDesvio padrão relativo, ^b n = 10

4.2.7 Aplicação eletroanalítica do sensor nAg-quitosana/GCE para a detecção de outros nitrocompostos

A sensibilidade do sensor nAg-quitosana/GCE para o 2-NF e o 3-NF na presença de 4-NF, foi testada em dois níveis de concentração, como mostrado na Figura 24.

É claramente observado que o sensor não respondeu para o 2-NF (Figura 24A– curva a) e para o 3-NF (Figura 24 B– curva b), e apresentou resposta para 4-NF (Figura 24A– curva c) quando todos estavam na concentração de $1,50 \mu\text{mol L}^{-1}$, valor que está dentro da curva de calibração obtida para o 4-NF. Isso significa que o 2-NF e 3-NF não interferem na determinação eletroanalítica do 4-NF nessa faixa de concentração, utilizando o nAg-quitosana/GCE. Por outro lado, para a concentração de $0,05 \text{ mol L}^{-1}$, o sensor proposto é sensível para os três isômeros (Figura 24B), pois estes reduzem em um potencial muito próximo, impossibilitando a determinação exclusiva de 4-NF. Então, conclui-se que na faixa de mmol L^{-1} , utilizando esse sensor, seria determinado a quantidade total de nitrocompostos.

Figura 24. Voltamogramas de onda quadrada obtidos para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de 4-NF: (A) 1,50 $\mu\text{mol L}^{-1}$; (B) 0,05 mmol L^{-1} , onde, (a) 2-NF (b) 3-NF e (c) 4-NF. Condições experimentais: tampão Britton-Robinson 0,1 mol L^{-1} (pH 3,0); $f = 20 \text{ Hz}$; $a = 30 \text{ mV}$; $\Delta E_s = 5$.



4.3 Estudos com a pendimetalina e etil paration

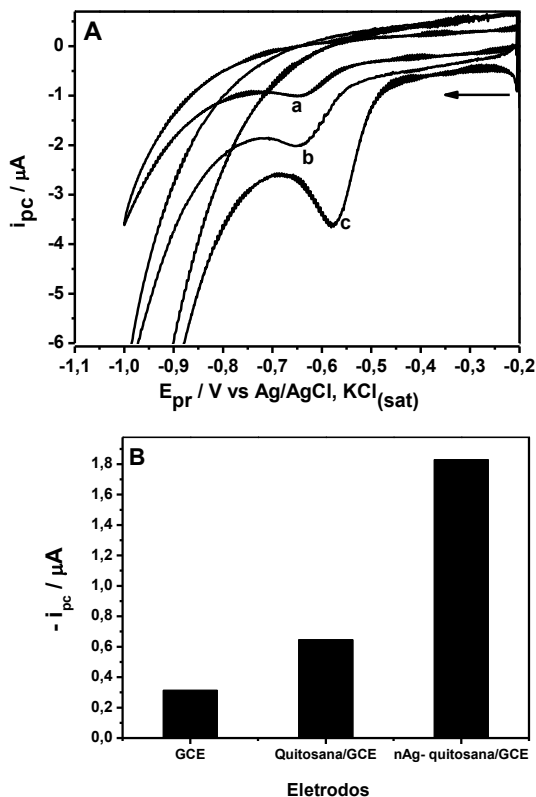
Nos próximos tópicos será abordado a performance eletroquímica do sensor nAg-quitosana/GCE na redução de PDM e EPT. Parâmetros como eletrólito suporte, pH da solução, variação de velocidade de varredura e pré-concentração foram investigados por CV. A SWV foi utilizada para desenvolvimento da metodologia. O sensor foi aplicado para quantificação de PDM em amostras de água e EPT em amostras de alface e mel. Os dados obtidos foram comparados com os resultados obtidos pela técnica UV-vis.

4.3.1 Resposta eletroquímica dos pesticidas sobre a superfície do nAg-quitosana/GCE

Inicialmente a redução da PDM $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ e EPT $20 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ foi investigada por CV na velocidade de 100 mV s^{-1} , em tampão Britton-Robinson $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0).

Na Figura 25 estão mostrados os voltamogramas cíclicos para a PDM no GCE, no quitosana/GCE e no sensor nAg-quitosana/GCE. Os voltamogramas foram obtidos variando-se o potencial de $-0,20 \text{ V}$ a $-1,0 \text{ V}$, voltando para $-0,20 \text{ V}$. No GCE sem modificação (Figura 25A – curva a), o pico de redução para a PDM foi observado em $-0,65 \text{ V}$ com uma corrente de aproximadamente $-0,30 \text{ } \mu\text{A}$. No sensor quitosana/GCE (Figura 25A – curva b), o pico de redução teve um deslocamento de potencial para $-0,64 \text{ V}$ e um aumento na corrente para $-0,60 \text{ } \mu\text{A}$. Para o sensor nAg-quitosana/GCE (Figura 25A – curva c) o pico teve um deslocamento para $-0,58 \text{ V}$ e a corrente aumentou para $-1,80 \text{ } \mu\text{A}$. Na Figura 25B tem-se o gráfico de barras mostrando as correntes com cada eletrodo.

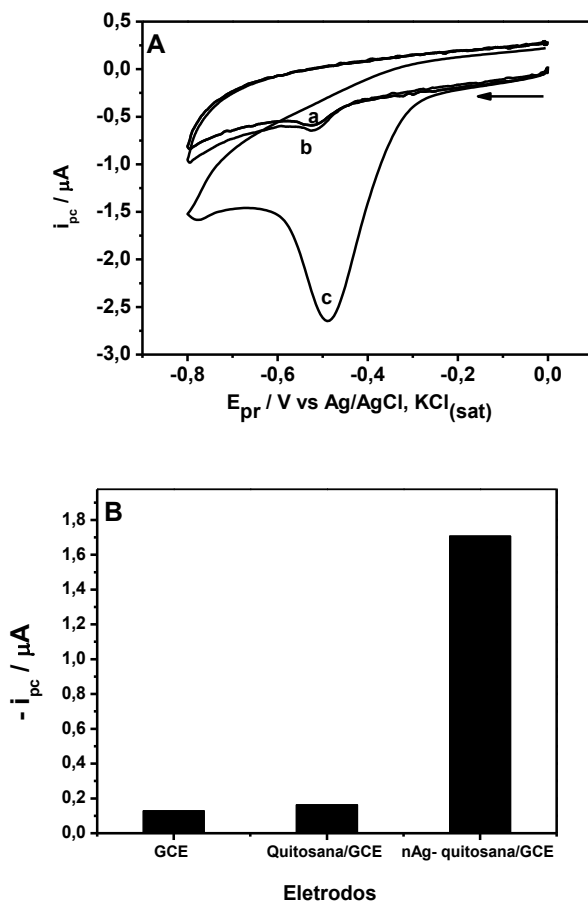
Figura 25. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) GCE (b) quitosana/GCE (c) nAg-quitosana/GCE em tampão Britton-Robinson 0,1 mol L⁻¹ (pH 4,0) na presença de PDM 1,0 mmol L⁻¹. (B) Respostas de i_{pc} nos diferentes eletrodos. $v = 100$ mV s⁻¹.



Na Figura 26 são exibidos os voltamogramas cíclicos para o EPT no GCE (Figura 26A – curva a), no quitosana/GCE (Figura 26A – curva b) e no sensor nAg-quitosana/GCE (Figura 26A – curva c) e na Figura 26B, o gráfico de barras com os valores de corrente para os 3 casos. Os voltamogramas foram obtidos variando-se o potencial de 0,0 V a -0,8 V, voltando para 0,0 V. Um pico de redução foi observado em -0,52 V com uma corrente de aproximadamente -0,13 μA para o EPT no GCE sem modificação. No sensor quitosana/GCE, não é observado deslocamento no potencial (-0,52 V) e aumento na corrente (-0,17 μA) de maneira significativa. Por fim, para o sensor nAg-quitosana/GCE, o pico de redução apresentou um deslocamento no potencial para -0,49 V

e a corrente aumentou para $-1,71 \mu\text{A}$, aumento de aproximadamente 13 vezes quando comparado a corrente obtida no GCE sem modificação.

Figura 26. (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para (a) GCE (b) quitosana/GCE (c) nAg-quitosana/GCE em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) na presença de EPT $20 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Respostas de i_{pc} nos diferentes eletrodos. $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$.



Os resultados demonstram claramente que as AgNPs estabilizadas na quitosana aumentaram a sensibilidade do GCE,

melhorando a cinética e a termodinâmica do processo eletroquímico envolvido na redução da PDM e EPT.

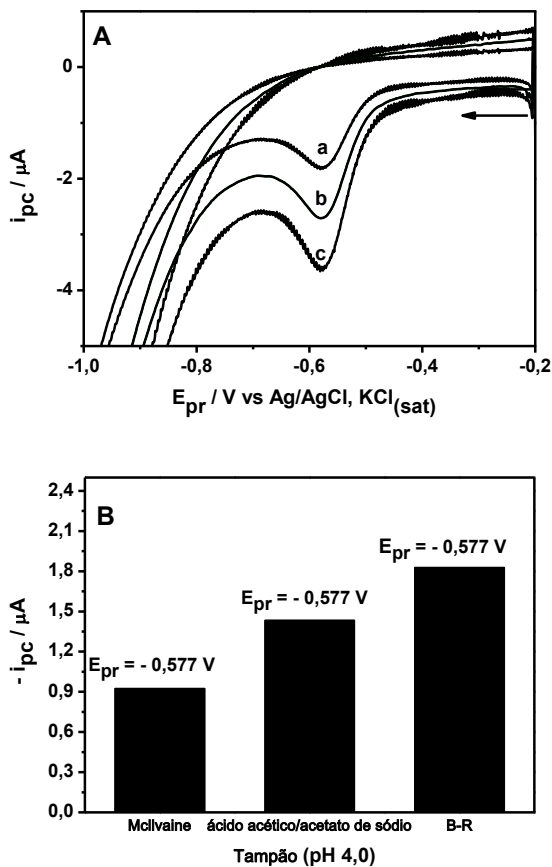
4.3.2 Seleção do eletrólito suporte

Primeiramente, foi investigada a influência do eletrólito suporte na redução eletroquímica da PDM (Figura 27) e do EPT (Figura 28).

Os eletrólitos suporte testados para ambos os compostos foram: tampão McIlvaine, tampão ácido acético/acetato de sódio, e tampão Britton-Robinson. Todos os tampões estavam na concentração $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com o pH ajustado para 4,0. A técnica utilizada foi a CV com uma velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

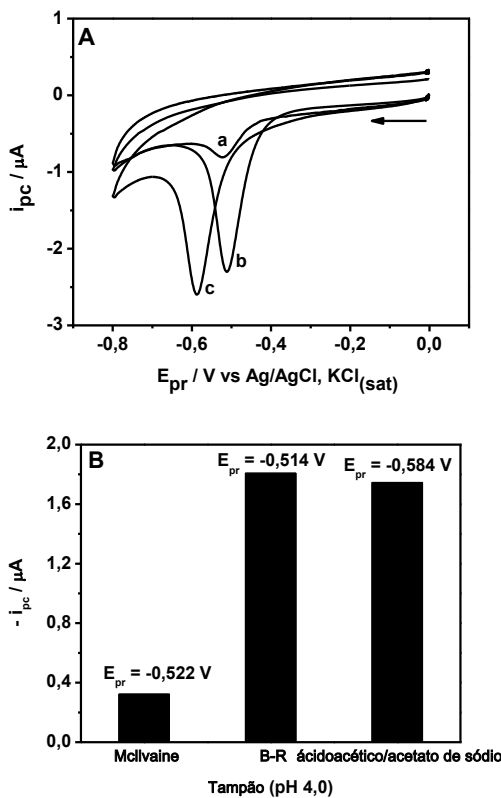
Os voltamogramas cíclicos para a PDM $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ foram obtidos variando o potencial de $-0,2 \text{ V}$ a $-1,0 \text{ V}$, voltando para $-0,2 \text{ V}$. Em tampão McIlvaine (Figura 27A – curva a) e tampão ácido acético/acetato de sódio (Figura 27A – curva b), a resposta de corrente foi pequena e a repetibilidade dos voltamogramas foi baixa, quando repetido o experimento. O melhor compromisso entre um bom valor de corrente e um perfil do voltamograma bem definido e reproduzível foi obtido usando tampão Britton-Robinson (Figura 27A – curva c), por esse motivo esse foi o tampão escolhido para os experimentos posteriores. Para uma melhor visualização, a Figura 27B, exibe um gráfico de barras com os valores de correntes obtidos em cada eletrólito.

Figura 27. Estudo do eletrólito suporte: (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes eletrólitos suporte: (a) tampão Mcllvaine, (b) tampão ácido acético/acetato de sódio e (c) tampão Britton-Robinson para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de PDM $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$. (B) Respostas de i_{pc} nos diferentes eletrólitos suporte. Todas os eletrólitos suporte estão na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.



A Figura 28 mostra os resultados obtidos para o EPT $20 \mu\text{mol L}^{-1}$. Os voltamogramas foram obtidos variando-se o potencial de $-0,0 \text{ V}$ até $-0,8 \text{ V}$, voltando para $0,0 \text{ V}$. Nesse caso, observamos que em tampão McIlvaine (Figura 28A – curva a), a resposta de corrente para a redução do EPT foi pequena, já o contrário aconteceu em tampão Britton-Robinson (Figura 28A – curva b) e tampão ácido acético/acetato de sódio (Figura 28A – curva c), onde a resposta de corrente foi melhor e com valor bastante próximo para ambos. Entretanto, a redução do EPT em tampão Britton-Robinson aconteceu em um potencial menos negativo ($-0,514 \text{ V}$), quando comparado a resposta obtida em tampão ácido acético/acetato de sódio ($-0,584 \text{ V}$), cerca de 60 mV de diferença. Por esse motivo e considerando também o bom perfil de voltamograma, o tampão Britton-Robinson, foi escolhido como eletrólito para o EPT. A Figura 28B mostra o gráfico de barras com os valores de correntes obtidos em cada eletrólito.

Figura 28. Estudo do eletrólito suporte: (A) Voltamogramas cíclicos obtidos em diferentes eletrólitos suporte: (a) tampão McIlvaine (b) tampão Britton-Robinson (c) tampão ácido acético/acetato de sódio para o sensor nAg-quitosana/ GCE na presença de EPT $20 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Respostas de i_{pc} nos diferentes eletrólitos suporte. Todos os eletrólitos suporte estão na concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

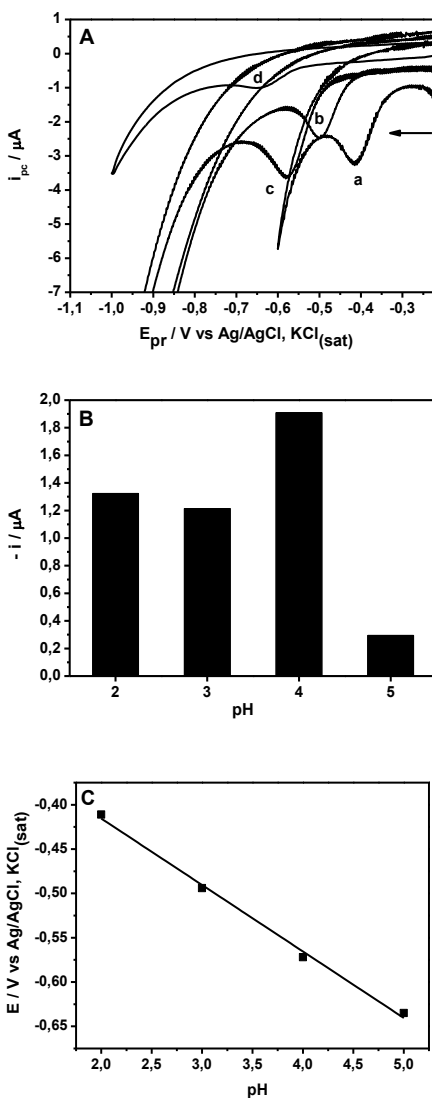


4.3.3 Estudo da variação do pH

As Figura 29 e a Figura 30 mostram os resultados obtidos sobre a influência da variação do pH do eletrólito suporte (tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) na redução de PDM e EPT, respectivamente. Os dados foram obtidos por CV, onde a varredura de potencial foi de $-0,2 \text{ V}$ até $-1,0 \text{ V}$, voltando para $-0,2 \text{ V}$, a uma velocidade de 100 mV s^{-1} .

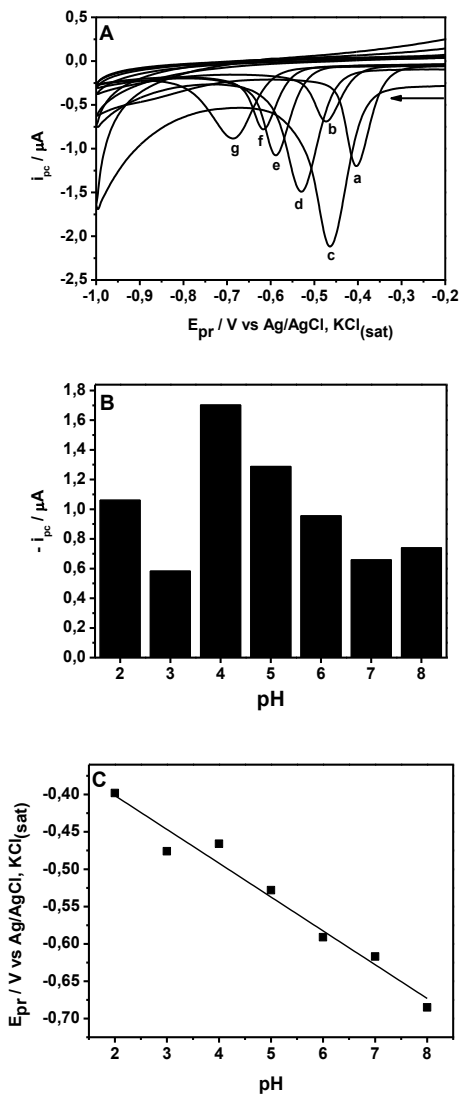
A Figura 29A mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para a redução de um grupo nitro da PDM em soluções de pH entre 2,0 e 5,0. O segundo pico de redução, referente a redução do segundo grupo nitro presente na estrutura da PDM aparece em valores de pH maiores que 5,0. Entretanto, como esse trabalho tem uma proposta quantitativa, escolheu-se trabalhar com apenas um pico de redução e por isso a faixa estudada de pH foi de 2,0 a 5,0. A Figura 29B mostra como a i_{pc} variou em função do pH. Observa-se que o maior valor de corrente foi obtido em pH 4,0. Além disso, nota-se que com o aumento de pH, o E_{pr} deslocou linearmente para valores de potenciais mais negativos (Figura 29C). O coeficiente angular do gráfico E_{pr} vs. pH foi de -75 mV pH^{-1} . Esse valor está próximo do valor de $-59,2 \text{ mV pH}^{-1}$, o que sugere que o mesmo número de prótons e elétrons participam da reação.

Figura 29. Estudo do pH: (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de PDM $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (a) pH 2,0; (b) pH 3,0; (c) pH 4,0 e (d) pH 5,0. (B) Variação da i_{pc} e (C) do E_{pr} em função do pH do eletrólito suporte. $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.



A Figura 30 mostra o estudo do pH para o EPT $20 \mu\text{mol L}^{-1}$. A Figura 30A mostra os voltamogramas cíclicos obtidos para a redução do EP em uma faixa de pH de 2,0 – 8,0. Observa-se que o maior valor de i_{pc} foi obtido em pH 4,0 (Figura 30B). Na Figura 30C, verifica-se que o valor de E_{pr} deslocou para valores mais negativos de potencial com o aumento do pH. O coeficiente angular obtido para a reta foi de -45 mV pH^{-1} . Como dito anteriormente, tal valor está consistente com o mecanismo de reação que propõe a transferência de igual número de elétrons e prótons.

Figura 30. Estudo do pH: (A) Voltamogramas cíclicos obtidos para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de EPT $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (a) pH 2,0; (b) pH 3,0; (c) pH 4,0; (d) pH 5,0; (e) pH 6,0; (f) pH 7,0 e (g) pH 8,0 . (B) Variação da i_{pc} e (C) do E_{pr} em função do pH do eletrólito suporte . $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.



Tanto para a PDM quanto para o EPT, a melhor resposta de corrente aliada a um bom perfil voltamétrico foi obtida em pH 4,0. Sendo esse o pH escolhido para os estudos subsequentes.

4.3.4 Estudo da variação da velocidade de varredura

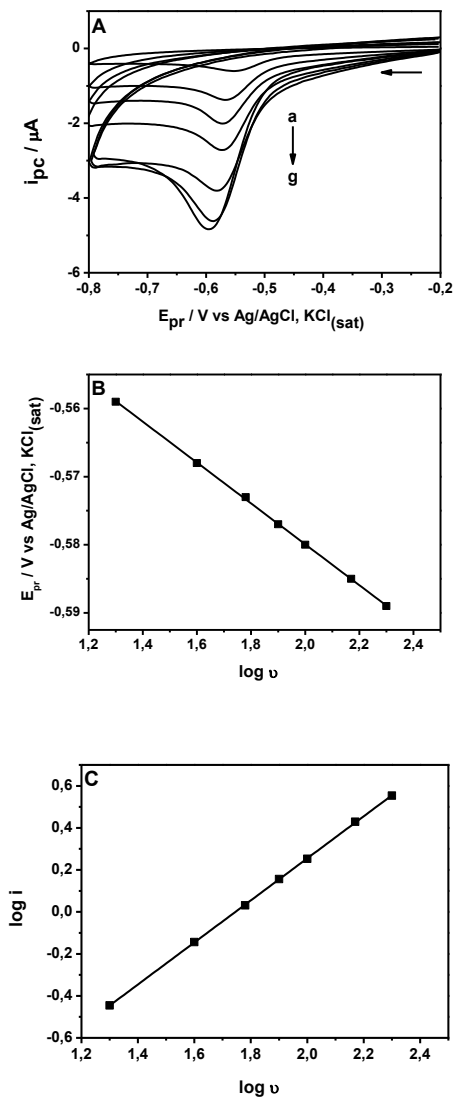
A influência da variação da velocidade de varredura na redução dos dois pesticidas também foi investigada, variando-se o potencial de $-0,2$ V a $-0,8$ V, voltando para $-0,2$ V, em tampão Britton-Robinson $0,1$ mol L⁻¹ (pH 4,0).

Para a PDM $1,0$ mmol L⁻¹, os voltamogramas cíclicos foram obtidos na faixa de velocidade que compreendeu valores entre 20 mV s⁻¹ e 200 mV s⁻¹ como mostrado na Figura 31A. Com o aumento da velocidade de varredura, observou-se que os valores E_{pr} deslocaram para valores de potenciais mais negativos.

A dependência de E_{pr} em função do $\log v$ foi linear de acordo com a equação $E_{pr}/V = -0,52 - 0,03 \log v$ (Figura 31B). Como mencionado anteriormente, a partir do coeficiente angular dessa reta, pode-se calcular o número de elétrons envolvidos na reação, considerando $\alpha = 0,5$, obteve-se um número de elétrons igual a 3,9.

A Figura 31C, exibe o gráfico $\log i_{pc}$ em função do $\log v$, o coeficiente angular obtido da reta foi igual a 0,99, próximo de 1,0, indicando que há adsorção de PDM na superfície do sensor nAg-quitosana/GCE.

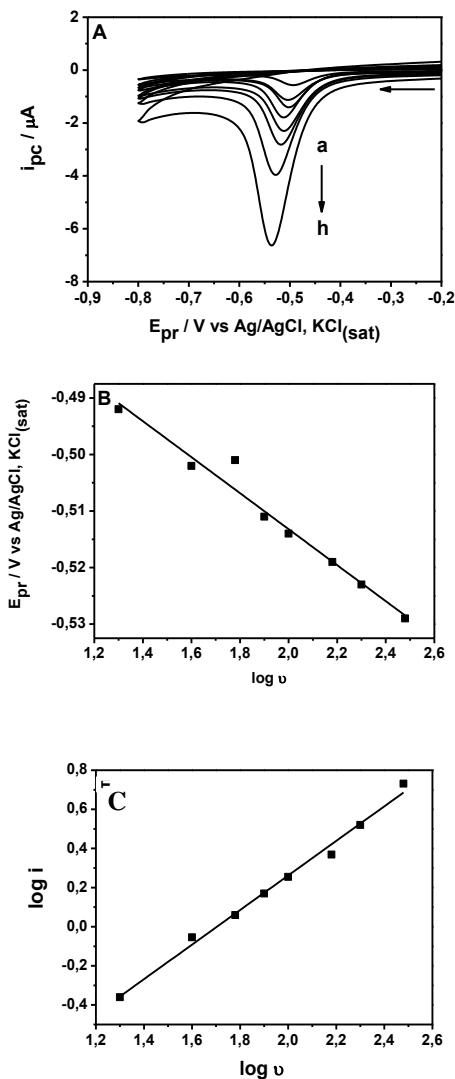
Figura 31. Estudo da variação da velocidade de varredura obtido para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de PDM $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0): (A) Voltamogramas cíclicos, onde, v = (a) 20 mV s^{-1} , (b) 40 mV s^{-1} , (c) 60 mV s^{-1} , (d) 80 mV s^{-1} , (e) 100 mV s^{-1} , (f) 150 mV s^{-1} , (g) 200 mV s^{-1} ; (B) gráfico E_{pr} vs. $\log v$; (C) gráfico $\log i$ vs. $\log v$.



A Figura 32A mostra os voltamogramas cíclicos para o organofosforado EPT $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes velocidade de varredura ($20 - 300 \text{ mV s}^{-1}$).

Como esperado, o E_{pr} foi deslocado para regiões mais negativas com o aumento da velocidade. O gráfico E_{pr} em função do $\log v$ (Figura 32B), foi linear ($R^2 = 0,965$) de acordo com a equação $E_{\text{pr}}/V = -0,449 - 0,032 \log v$, onde obteve-se um número de elétrons de aproximadamente igual a 4,0. Por fim, o gráfico i_{pc} em função do $\log v$ (Figura 32C) mostrou uma relação linear entre i_{pc} e aumento de v . O coeficiente angular da equação da reta foi igual a 0,884, indicando que nesse caso também, o mecanismo é controlado por um processo adsortivo.

Figura 32. Estudo da variação da velocidade de varredura obtido para o sensor nAg-quitosana/GCE na presença de EPT $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0): (A) Voltamogramas cíclicos, onde, $v =$ (a) 20 mV s^{-1} , (b) 40 mV s^{-1} , (c) 60 mV s^{-1} , (d) 80 mV s^{-1} , (e) 100 mV s^{-1} , (f) 150 mV s^{-1} , (g) 200 mV s^{-1} , (h) 300 mV s^{-1} ; (B) gráfico E_{pr} vs. $\log v$; (C) gráfico $\log i$ vs. $\log v$.



O comportamento adsorptivo desses pesticidas, assim como o número de elétrons igual a 4, concordam com outros estudos encontrados na literatura.

Em virtude da ocorrência de adsorção dos pesticidas na superfície do nAg-quitosana/GCE, realizou-se uma etapa de pré-concentração antes de cada ensaio voltamétrico, visando aumentar a sensibilidade do método, que, por consequência, pode fornecer baixos limites de detecção. A realização dessa etapa será discutida no próximo tópico.

4.3.5 Adsorção dos pesticidas PDM E EPT na superfície do sensor nAg-quitosana/CGE

A característica adsorptiva de ambos os pesticidas já havia sido identificada anteriormente através do registro de voltamogramas cíclicos sucessivos, no qual se compara o primeiro voltamograma registrado com os demais obtidos sucessivamente.

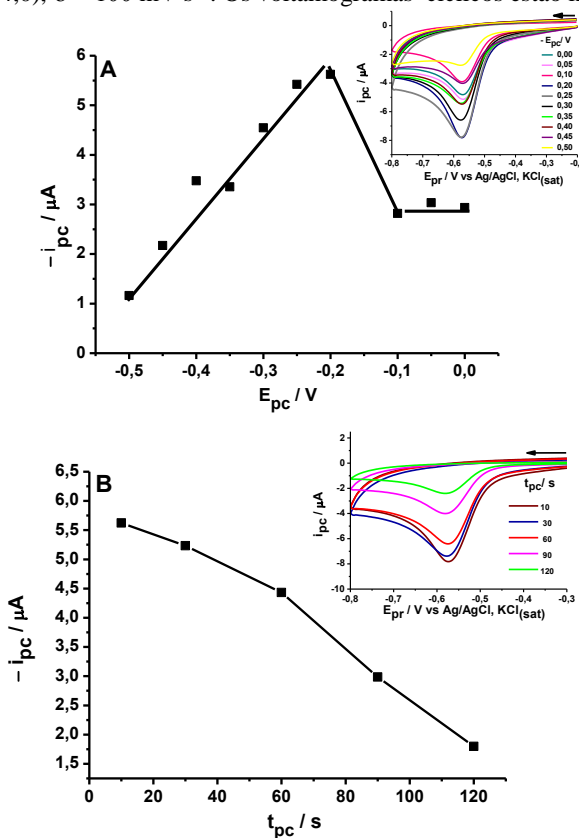
Observou-se que para a redução da PDM e EPT, o valor de i_{pc} obtido no primeiro ciclo diminuiu quando comparado com o valor de i_{pc} obtido em ciclos sucessivos. Isso significa que a superfície do sensor foi bloqueada pela adsorção das moléculas de PDM ou EPT, impedindo que novas moléculas cheguem a superfície, assim, como consequência, a corrente apresentou um decréscimo.

Baseado nessas observações, uma etapa de pré-concentração foi realizada antes de cada experimento. Então, variáveis de pré-concentração, como, potencial de pré-concentração (E_{pc}) e tempo de pré-concentração (t_{pc}) foram otimizadas.

A Figura 33 mostra a influência da variação do E_{pc} e t_{pc} na i_{pc} da PDM $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$. A faixa de E_{pc} estudada compreendeu valores de 0,0 V a -0,5 V com um t_{pc} mantido fixo de 10 s, enquanto que o t_{pc} foi variado de 10 a 120 s com o E_{pc} mantido constante (-0,2 V).

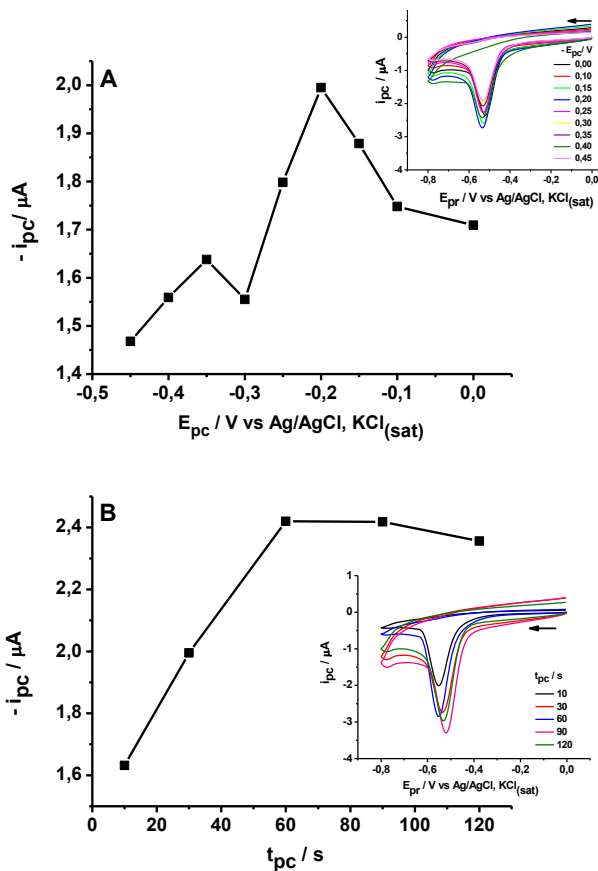
Nota-se na Figura 33A que o valor de i_{pc} da PDM aumentou com o aumento E_{pc} até -0,2 V e depois diminuiu. Na Figura 33B, observa-se que o valor de i_{pc} decresce com o aumento do tempo, indicando que há uma diminuição da acumulação de PDM na superfície do sensor com o passar do tempo. Assim, foi escolhido para E_{pc} e t_{pc} , os valores de -0,2 V e 10 s, respectivamente, pois nessas condições obteve-se o melhor valor de corrente e o melhor perfil voltamétrico (os voltamogramas cíclicos estão inseridos nas figuras).

Figura 33. Estudo da influência dos parâmetros de pré-concentração: (A) E_{pc} (quando $t_{pc} = 10$ s), (B) t_{pc} (quando, $E_{pc} = -0,2$ V), na i_{pc} da PDM $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$, utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE, em tampão Britton-Robinson, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos estão inseridos.



A Figura 34 mostra os resultados para a otimização do E_{pc} e t_{pc} para o EPT $20 \mu\text{mol L}^{-1}$. Variou-se o E_{pc} de $0,0 \text{ V}$ a $-0,45 \text{ V}$ utilizando um $t_{pc} = 30 \text{ s}$ (Figura 34A) e o t_{pc} na faixa de $0-120 \text{ s}$, quando $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$ (Figura 34B). Pelos mesmos motivos relatados acima, foram escolhidos como E_{pc} e t_{pc} , $-0,2 \text{ V}$ e 60 s , respectivamente, para dar sequência aos experimentos.

Figura 34. Estudo da influência dos parâmetros de pré-concentração: (A) E_{pc} (quando $t_{pc} = 30$ s), (B) t_{pc} (quando, $E_{pc} = -0,2$ V), na i_{pc} do EPT $20 \mu\text{mol L}^{-1}$, utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE, em tampão Britton-Robinson, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), $\nu = 100 \text{ mV s}^{-1}$. Os voltamogramas cíclicos estão inseridos.



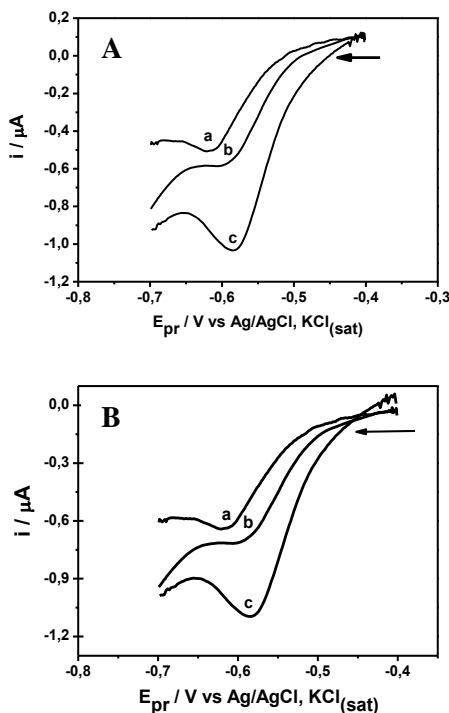
4.3.6 Seleção da técnica de trabalho

Foram investigadas três diferentes técnicas eletroanalíticas com o objetivo de avaliar a sensibilidade destas na redução dos pesticidas. As técnicas utilizadas foram: LSV, DPV e SWV. O potencial foi variado no intervalo de $-0,4 \text{ V}$ até $-0,7 \text{ V}$ para ambos pesticidas na concentração de $0,333 \mu\text{mol L}^{-1}$. Os parâmetros de cada técnica foram

otimizados de modo a se obter a mesma velocidade de varredura (100 mV s^{-1}) para todas as medidas. Cabe lembrar que antes de cada medida era aplicado o E_{pc} e t_{pc} otimizado para cada um dos pesticidas.

A Figura 35A exibe os voltamogramas para a PDM e a Figura 35B para o EPT. Como obteve-se uma melhor resposta de corrente utilizando a SWV, essa foi a técnica escolhida para contruir a curva de calibração e depois realizar a determinação nos diferentes tipos de amostras.

Figura 35. Voltamogramas para (A) PDM $0,333 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 10 \text{ s}$), (B) EPT $0,333 \mu\text{mol L}^{-1}$ ($E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 60 \text{ s}$) em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) obtidos no sensor nAg-quitosana/GCE em: (a) LSV, (b) DPV, (c) SWV, $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$.

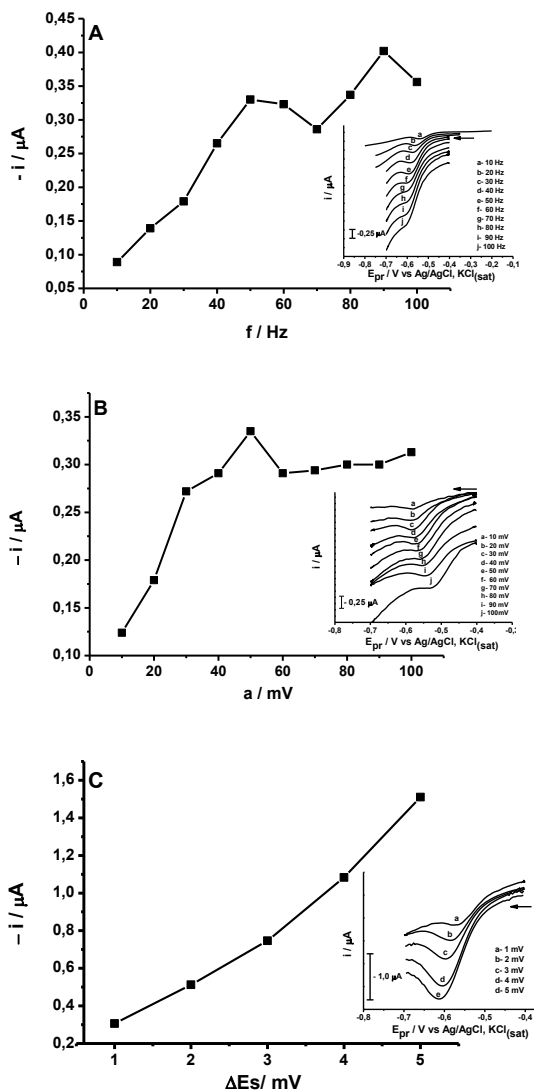


4.3.7 Otimização dos parâmetros de onda quadrada

Como a SWV foi a técnica escolhida para construir a curva de calibração, o efeito dos parâmetros foi investigado utilizando PDM e EPT na concentração de $0,333 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson (pH 4,0). Para a escolha das melhores condições, avaliou-se simultaneamente as melhores respostas de corrente e o melhor perfil voltamétrico.

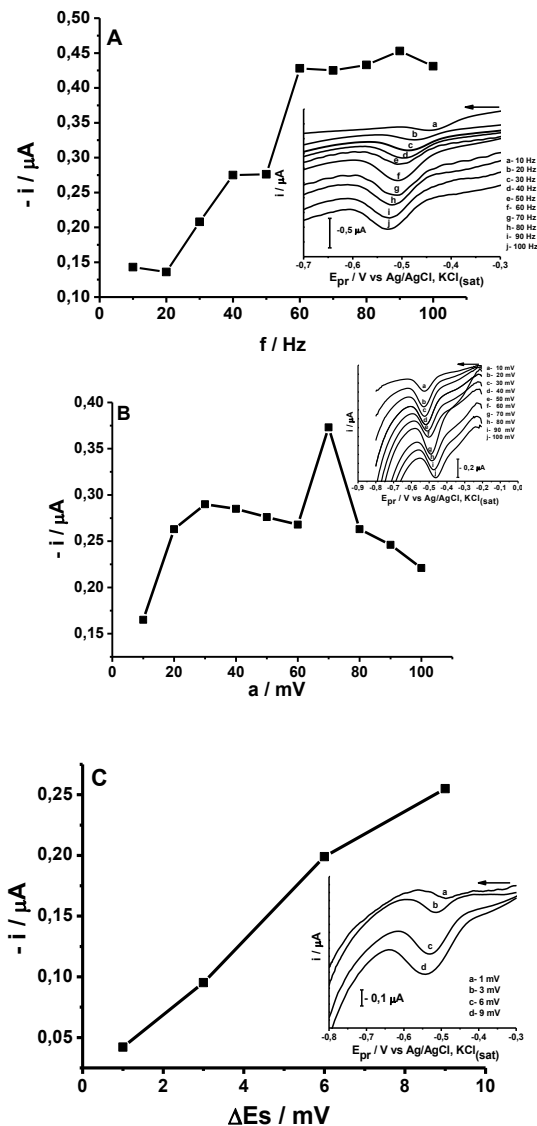
A Figura 36 mostra a resposta de corrente para PDM em função da frequência (Figura 36A), amplitude (Figura 36B) e incremento (Figura 36C). As melhores condições obtidas foram: frequência de 50 Hz, amplitude 50 mV e incremento de 4 mV.

Figura 36. Dependência da corrente resultante com a variação de (A) frequência (quando: $a = 60$ mV e $\Delta E_s = 1$ mV), (B) amplitude (quando: $f = 50$ Hz e $\Delta E_s = 1$ mV), (C) incremento (quando: $f = 50$ Hz e $a = 50$ mV) para a PDM $0,333 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). Pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 10 \text{ s}$.



A Figura 37 mostra os resultados da otimização para o EPT. As melhores correntes e perfis voltamétricos foram obtidos quando foram escolhidos: frequência de 70 Hz, amplitude de 60 mV e incremento de 3 mV.

Figura 37. Dependência da corrente resultante com a variação de (A) frequência (quando: $a = 40$ mV e $\Delta E_s = 5$ mV), (B) amplitude (quando: $f = 60$ Hz e $\Delta E_s = 5$ mV), (C) incremento (quando: $f = 60$ Hz e $a = 70$ mV) para o EPT $0,333 \mu\text{mol L}^{-1}$ em tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0). Pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 60\text{s}$.



4.3.8 Construção da curva de calibração e características analíticas

Após estabelecidas as melhores condições experimentais foram construídas as curvas de calibração para os pesticidas.

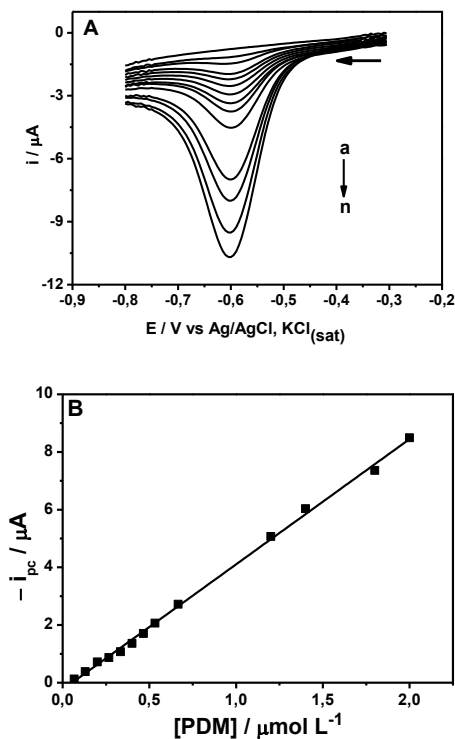
A Figura 38 apresenta os voltamogramas de onda quadrada (Figura 38A) e a curva de calibração (Figura 38B) para a PDM. Como pode ser observado, um pico de redução bem definido foi obtido em aproximadamente $-0,60$ V, o qual a corrente aumentou linearmente com a concentração de PDM. A curva de calibração foi linear na faixa de $0,07$ a $2,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ e a equação da reta obtida foi: $i/\mu\text{A} = 4,34 [\text{PDM}]/\mu\text{mol L}^{-1} - 0,24$.

O LD foi calculado de acordo com a Equação 3:

$$\text{LD} = 3,3 \text{ DP}/a \quad \text{Equação 3}$$

onde DP é o desvio padrão do coeficiente linear da reta e a é o coeficiente angular. O LD calculado foi de $0,039 \mu\text{mol L}^{-1}$ (39 nmol L^{-1}). Adicionalmente, o LQ foi calculado pela Equação 2, já discutida anteriormente na seção 4.2.6 e o valor obtido foi de $0,119 \mu\text{mol L}^{-1}$ (119 nmol L^{-1}). Os ensaios de repetibilidade intradia e interdia (feitos da mesma maneira como discutido na seção 4.2.6) para uma concentração de $1,2 \mu\text{mol L}^{-1}$ PDM foram realizados, e os desvios padrões relativos obtidos foram 3,4% e 5,9% para a repetibilidade intradia e interdia, respectivamente.

Figura 38. Voltamogramas de onda quadrada obtidos no sensor nAg-quitosana/GCE para a PDM: (a) branco, (b) $0,07 \mu\text{mol L}^{-1}$, (c) $0,13 \mu\text{mol L}^{-1}$, (d) $0,20 \mu\text{mol L}^{-1}$, (e) $0,27 \mu\text{mol L}^{-1}$, (f) $0,33 \mu\text{mol L}^{-1}$, (g) $0,40 \mu\text{mol L}^{-1}$, (h) $0,47 \mu\text{mol L}^{-1}$, (i) $0,53 \mu\text{mol L}^{-1}$, (j) $0,67 \mu\text{mol L}^{-1}$, (k) $1,20 \mu\text{mol L}^{-1}$, (l) $1,40 \mu\text{mol L}^{-1}$, (m) $1,80 \mu\text{mol L}^{-1}$, (n) $2,00 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de calibração. Condições experimentais: $f = 50 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$, tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 10 \text{ s}$.



A Figura 39A mostra os voltamogramas de onda quadrada obtidos em diferentes concentrações de EPT. A curva de calibração exibida na Figura 39B mostrou uma dependência linear da corrente de pico com a concentração em um intervalo de $0,04$ a $8,00 \mu\text{mol L}^{-1}$. A curva apresentou a seguinte equação: $i/\mu\text{A} = 0,119 [\text{EPT}]/\mu\text{mol L}^{-1} + 0,035$. Os LD e LQ obtidos foram: $0,04 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,21 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente.

Todos os dados extraídos da curva de calibração referentes a PDM e EPT estão resumidos na Tabela 5.

Figura 39. Voltamogramas de onda quadrada obtidos no sensor nAg-quitosana/GCE para o EPT no (a) branco, (b) $0,04 \mu\text{mol L}^{-1}$, (c) $0,08 \mu\text{mol L}^{-1}$, (d) $0,16 \mu\text{mol L}^{-1}$, (e) $0,93 \mu\text{mol L}^{-1}$, (f) $1,66 \mu\text{mol L}^{-1}$, (g) $2,20 \mu\text{mol L}^{-1}$, (h) $2,80 \mu\text{mol L}^{-1}$, (i) $3,44 \mu\text{mol L}^{-1}$, (j) $4,06 \mu\text{mol L}^{-1}$, (k) $4,66 \mu\text{mol L}^{-1}$, (l) $5,33 \mu\text{mol L}^{-1}$, (m) $6,00 \mu\text{mol L}^{-1}$, (n) $6,66 \mu\text{mol L}^{-1}$, (o) $7,33 \mu\text{mol L}^{-1}$, (p) $8,00 \mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de calibração. Condições experimentais: $f = 70 \text{ Hz}$, $a = 60 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$, tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 60 \text{ s}$.

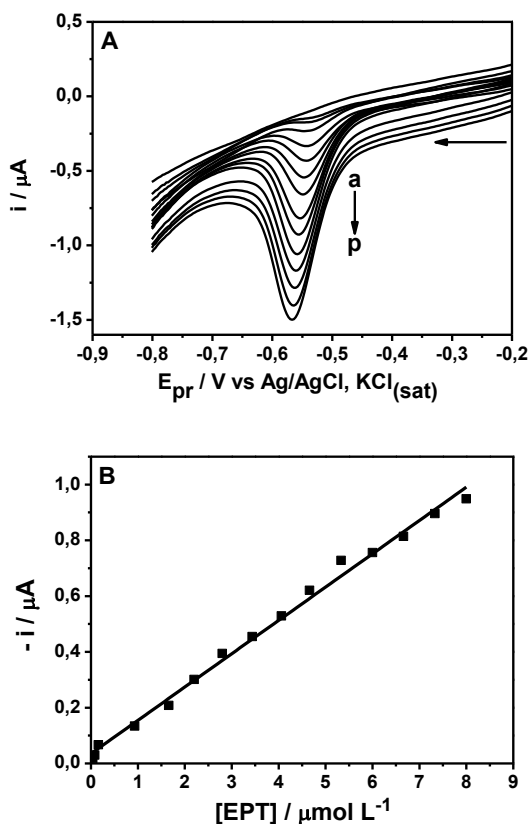


Tabela 5. Características analíticas para a determinação de PDM e EPT usando o sensor nAg-quitosana/GCE.

Características analíticas	PDM	EPT
Potencial de pico / V	-0,60	-0,58
Faixa Linear / ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,07 – 2,00	0,04 – 8,00
Coefficiente de correlação / (R^2)	0,998	0,994
Coefficiente angular / ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	4,344	0,119
Desvio padrão do coeficiente angular / ($\mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$)	0,054	0,002
Intercepto / μA	-0,239	0,035
Desvio padrão do intercepto / μA	0,052	0,011
LD / ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,039	0,04
LQ / ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0,119	0,21
Repetibilidade da i_{pc} (intradia) / % ^{a, b}	3,40	3,20
Repetibilidade da i_{pc} (interdia) / % ^{a, b}	5,90	6,20

^a Desvio padrão relativo; ^b n = 10

Com os resultados obtidos é possível afirmar que o sensor utilizado nesse trabalho tem um grande potencial para ser aplicado na quantificação dos pesticidas PDM e EPT obtendo-se uma ótima repetibilidade.

4.3.9 Aplicação analítica do sensor proposto

Com o objetivo de mostrar a aplicação prática, o sensor nAg-quitosana/GCE foi utilizado para determinação de PDM em amostra de água mineral e água de torneira e detecção de EPT em amostra de mel e alface, como será descrito mais detalhadamente nos próximos tópicos.

4.3.10 Determinação de PDM em amostras de água utilizando o sensor nAg-quitosana/ GCE

A determinação eletroanalítica da PDM nas amostras de água mineral e de torneira foi realizada pelo método de adição da solução

padrão, que é um método muito utilizado por minimizar o efeito de matriz. As alíquotas das amostras foram diluídas diretamente em 15 mL de tampão Britton-Robinson (pH 4,0) na célula eletroquímica como descrito no procedimento experimental (Seção 3.6.1.1).

A Figura 40 e a Figura 41 referem-se às determinações de PDM nas amostras de água mineral e água de torneira, respectivamente. A Figura 40A mostra os voltamogramas de onda quadrada para a amostra de água mineral antes (Figura 40A- curva a) e depois das adições sucessivas de padrão. A relação linear entre a corrente obtida e a concentração de PDM é mostrada na Figura 40B. A curva de adição de padrão é mostrada junto com a curva de calibração para efeito de comparação. A mesma descrição se aplica a Figura 41.

Para ambas as amostras, os voltamogramas exibiram picos de redução bem definidos, em aproximadamente $-0,60$ V e a corrente de pico aumentou linearmente com o aumento da concentração de PDM.

As inclinações obtidas das curvas de adição de padrão foram $3,92 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ e $4,24 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ para a amostra de água mineral e água de torneira, respectivamente, valores próximos ao valor da inclinação da curva de calibração ($4,34 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$). Isso significa que o método proposto utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE apresenta ausência de interferência dos componentes da matriz na determinação.

Figura 40. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos após: (a) branco, (b) adição de 100 μL da amostra de água mineral, (c-g) adições sucessivas de 100 μL da solução padrão de PDM 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. (B) Curva de adição de padrão para amostra de água mineral e curva de calibração. Condições experimentais: $f = 50$ Hz, $a = 50$ mV, $\Delta E_s = 4$ mV, tampão Britton-Robinson 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0), pré-concentração: $E_{pc} = -0,2$ V, $t_{pc} = 10$ s.

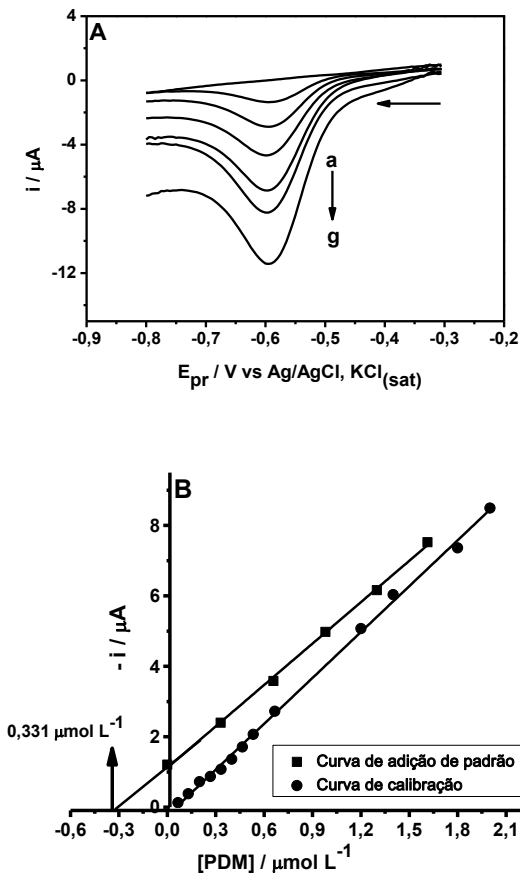
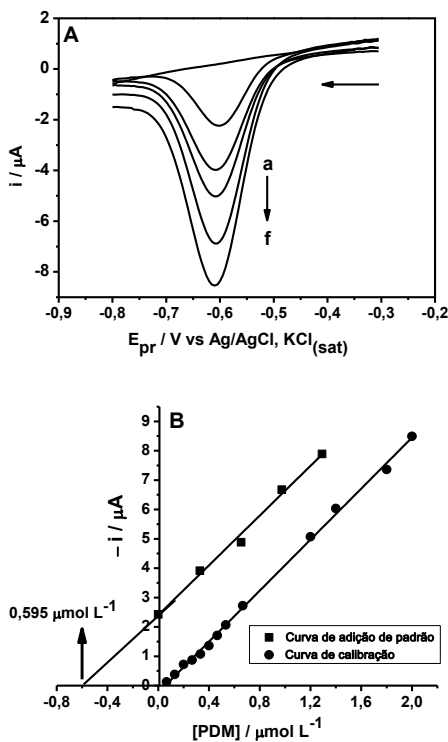


Figura 41. Voltamogramas de onda quadrada obtidos após : (a) branco, (b) adição de 180 μL de amostra de água de torneira, (c-f) adições sucessivas de 100 μL da solução padrão de PDM 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. B) Curva de adição de padrão para amostra de água de torneira e curva de calibração. Condições experimentais: $f = 50 \text{ Hz}$, $a = 50 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 4 \text{ mV}$, tampão Britton-Robinson 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0), pré- concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 10 \text{ s}$.



A Tabela 6 mostra os resultados obtidos na quantificação realizada em triplicada de PDM nas amostras.

Tabela 6. Resultados obtidos para a quantificação da PDM na amostra de água mineral e água de torneira pelo método proposto utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE.

Amostra	Valor encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Média ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	DPR (%)
Água mineral	0,333	0,331	0,6
	0,330		
	0,329		
	0,588		
Água de torneira	0,590	0,595	1,69
	0,606		

Por fim, foram realizados os ensaios de recuperação para avaliar a exatidão dos dados fornecidos pelo sensor proposto. Os ensaios de recuperação são definidos como a proporção da quantidade da substância de interesse presente ou adicionada no material teste, que é extraída e quantificada (RIBANI et al., 2004).

Cinco e quatro adições de padrão de PDM foram adicionadas à amostra de água mineral e água de torneira, respectivamente (Tabela 7). Obteve-se uma recuperação na faixa de 95,36% – 103,04% para a água mineral, e 93,95% – 102,32% para a água de torneira. Esses resultados demonstram-se bastante satisfatórios, demonstrando uma boa exatidão dos dados obtidos pelo sensor nAg-quitosana/GCE.

Tabela 7. Estudos de recuperação pelo método de adição de padrão nas amostras de água mineral e água de torneira.

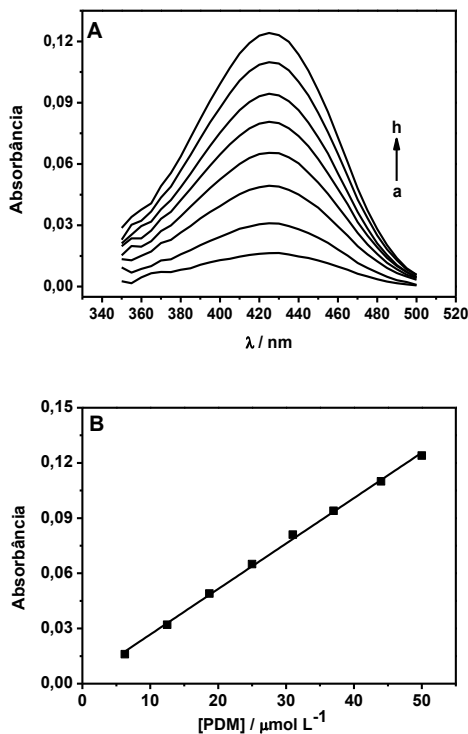
Amostra	Valor adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Valor recuperado (%)
Água mineral	0,331	0,320	96,66
	0,658	0,627	95,36
	0,980	0,981	100,10
	1,299	1,285	98,94
	1,613	1,617	100,26
Água de torneira	0,329	0,339	103,04
	0,654	0,614	93,95
	0,975	0,998	102,32
	1,292	1,293	100,10

4.3.11 Determinação de PDM pelo método comparativo

Outra maneira de verificar a exatidão do método proposto é a comparação dos resultados obtidos com os resultados de um segundo método conhecido. Nesse caso, como método comparativo, utilizou-se espectroscopia UV-vis.

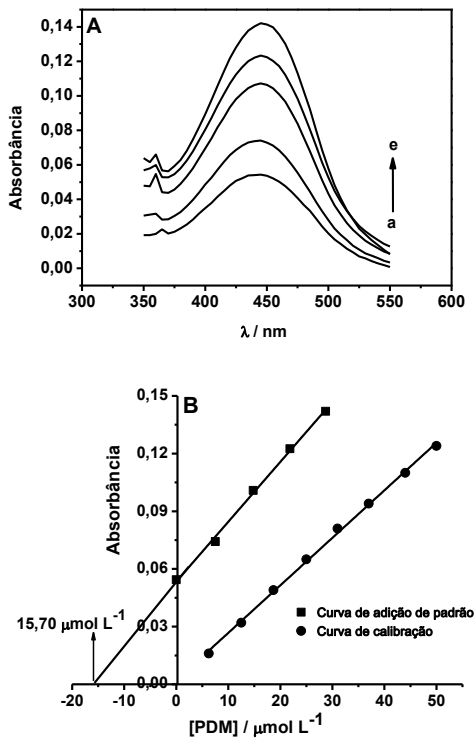
Inicialmente, obteve-se uma curva de calibração para a PDM por meio de adições sucessivas de padrão. Os espectros são mostrados na Figura 42A onde observa-se que a PDM apresentou uma banda com um máximo de absorção em 420 nm, a qual aumentou linearmente com o aumento da concentração. A curva de calibração exibida na Figura 42B foi linear na faixa de concentração de 6,25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ($R^2 = 0,998$).

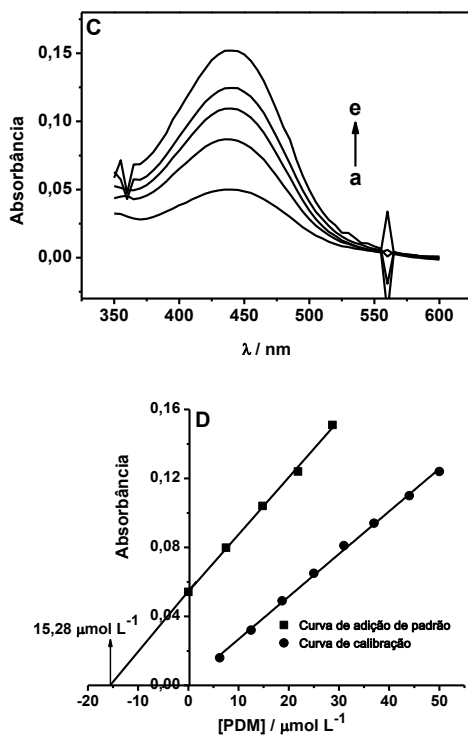
Figura 42. (A) Espectros UV-vis para a solução de PDM (a) $6,25 \mu\text{mol L}^{-1}$; (b) $12,5 \mu\text{mol L}^{-1}$; (c) $18,7 \mu\text{mol L}^{-1}$; (d) $25 \mu\text{mol L}^{-1}$; (e) $31 \mu\text{mol L}^{-1}$; (f) $37 \mu\text{mol L}^{-1}$; (g) $44 \mu\text{mol L}^{-1}$; (h) $50 \mu\text{mol L}^{-1}$; (B) Curva de calibração.



Os resultados referentes a quantificação de PDM nas amostras pelo método de adição de padrão são mostrados na Figura 43. Podemos dizer que não houve efeito de interferência de matriz, pois as inclinações das curvas de adição de padrão de ambas as amostras ficaram bastante próximas da inclinação da curva de calibração.

Figura 43. (A) Espectros UV-vis para (a) 2 mL de amostra de água mineral (b-e) adições sucessivas de 30 μL do padrão de PDM 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$; (B) Curva de adição de padrão para amostra de água mineral; (C) Espectros UV-vis para (a) 2 mL de amostra de água de torneira (b-e) adições sucessivas de 30 μL do padrão de PDM 500 $\mu\text{mol L}^{-1}$; (D) Curva de adição de padrão para amostra de água de torneira .





Na Tabela 8 estão apresentados os dados referentes a quantificação de PDM nas amostras por ambos os métodos, a média das determinações, os desvios padrões, os erros relativos e os testes estatísticos. O tratamento estatístico tem como objetivo avaliar o sensor desenvolvido quanto à exatidão e a precisão dos resultados obtidos.

A média dos valores obtidos para as três determinações ($n = 3$) foi $52,30 \mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando o UV-vis e $49,65 \mu\text{mol L}^{-1}$ utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE para a água mineral e $50,93 \mu\text{mol L}^{-1}$ (UV-vis) e $49,58 \mu\text{mol L}^{-1}$ (nAg-quitosana/GCE) para a água de torneira. Os valores obtidos estão muito próximos do valor “real” (valor das amostras simuladas) que é $50,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ (descrito no procedimento experimental, seção 3.6).

O desvio padrão relativo para as três determinações de PDM foi de 0,50% e 1,76% para água mineral e 1,38% e 1,44% para a água de torneira utilizando o nAg-quitosana/GCE e UV-vis, respectivamente.

O erro relativo foi calculado a partir da Equação 4:

$$E_r (\%) = V_e - V_r / V_r \times 100$$

Equação 4

Onde: V_e = valor encontrado e V_r = valor real

Para o E_{r1} , V_e é o valor encontrado pelo sensor ou o valor obtido pelo UV-vis e V_r é o valor “real” (amostra simulada). Para o E_{r2} , V_e é o valor obtido com o sensor e V_r é o valor obtido pela técnica de UV-vis.

O erro relativo entre o sensor nAg-quitosana/GCE e o valor “real” foi inferior a 0,84% e o erro relativo entre o a técnica UV-vis e o valor “real” foi inferior a 4,60%. Já o erro relativo entre o sensor nAg-quitosana/GCE e a técnica de UV-vis foi inferior a 5,07% . Como os valores de erro relativo obtidos não foram altos, pode-se concluir que o método proposto apresenta uma boa exatidão (RIBANI et al., 2004).

O teste t de Student e o teste F são testes bastantes utilizados para se comparar resultados obtidos com métodos diferentes com o objetivo de se avaliar a exatidão e a precisão, respectivamente. As equações 5 e 6 foram utilizadas no cálculo do valores de t e F , respectivamente.

$$t = \frac{\bar{x} - \mu_0}{\frac{s}{\sqrt{n}}}$$

Equação 5

$$F = \frac{S_{maior}^2}{S_{menor}^2}$$

Equação 6

Onde: \bar{x} é o valor médio das amostras; μ_0 é valor real; S é o desvio padrão e n é número de repetições

O teste t foi utilizado para comparar os resultados fornecidos pelos dois métodos com o valor “real”. Em um nível de 95% de confiança, todos os valores de t calculados foram menores que o valor de $t_{teórico}$ (4,30), indicando que não houve diferença significativa entre os dados obtidos pelos dois métodos e o valor “real”.

Já o teste F foi utilizado para verificar a discrepância dos valores obtidos pela técnica voltamétrica e pela técnica de UV-vis. Os valores de F calculados foram menores que o valor de $F_{teórico}$ (19) para um nível de confiança de 95%, indicando não haver diferença significativa na precisão fornecida pelas duas técnicas.

Os resultados mostrados acima indicam que a determinação de PDM utilizando o a metodologia desenvolvida com o sensor nAg-quitosana/GCE é precisa e exata.

Tabela 8. Determinação de PDM em água mineral e água de torneira.

Amostra	Água mineral		Água de torneira	
	UV-vis	nAg-quitosana/GCE	UV-vis	nAg-quitosana/GCE
Valor real ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	50	50	50	50
Valor encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$) ^a	52,30	49,65	50,93	49,58
DPR (%)	1,76	0,50	1,44	1,38
E _{r1} (%) ^b	4,60	-0,70	1,86	-0,84
E _{r2} (%) ^c	-----	-5,07	-----	-2,65
t _{valor} ^d	4,30	-2,44	2,20	-1,06
F _{teórico} ^e	13,76	13,76	1,15	1,15

^a $n = 3$.
^b E_{r1} = Erro relativo entre o sensor nAg-quitosana/GCE ou a técnica de UV-vis e o valor real.
^c E_{r2} = Erro relativo entre o sensor nAg-quitosana/GCE e a técnica de UV-vis.
^d $t_{teórico} = 4,30$.
^e $F_{teórico} = 19$.

4.3.12 Determinação de EPT em amostra de alface e mel utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE e UV-Vis

Para a determinação voltamétrica de EPT adicionou-se à célula eletroquímica uma alíquota da amostra e o padrão. Utilizando a SWV, variou-se o potencial na faixa de -0,2 V a -0,8 V. Os voltamogramas e a curva de adição de padrão para a amostra de alface e para amostra de mel são mostrados na Figura 44 e na Figura 45, respectivamente.

Os voltamogramas tanto para a amostra de alface quanto para a amostra de mel exibiram um pico de redução para o EPT em aproximadamente -0,50 V e a corrente aumentou linearmente com o aumento da concentração do organofosforado.

Nessas determinações, também observa-se que as inclinações das curvas de adição de padrão ($0,121 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ para a amostra de alface e $0,137 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$ para a amostra de mel) e a inclinação da curva de calibração ($0,119 \mu\text{A L } \mu\text{mol}^{-1}$) ficaram muito próximas, demonstrando uma boa seletividade ou seja, ausência de interferência.

Figura 44. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos após: (a) branco, (b) adição de 100 μL da amostra de alface, (c-g) adições sucessivas de 200 μL da solução padrão de EPT $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. B) Curva de adição de padrão para amostra de alface e curva de calibração. Condições experimentais: $f = 70 \text{ Hz}$, $a = 60 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$, tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0), pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 60 \text{ s}$.

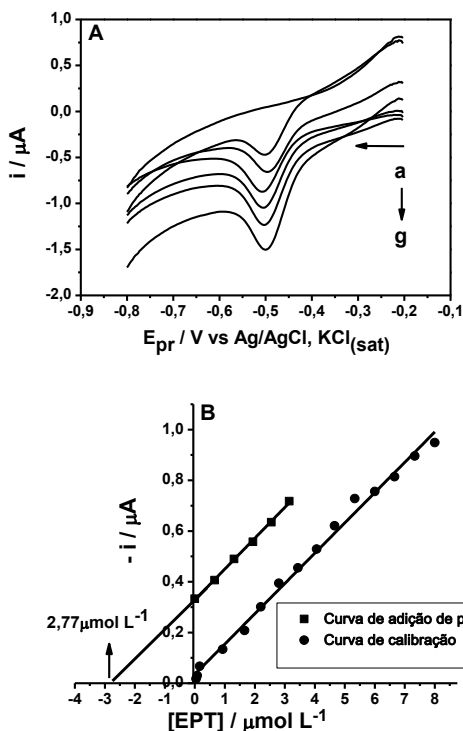
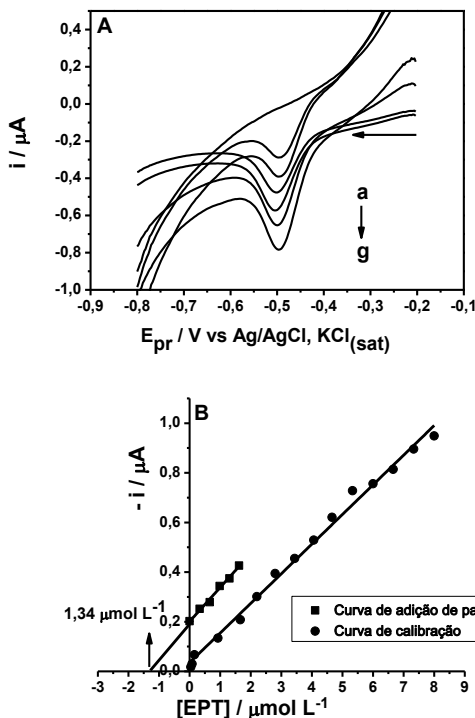


Figura 45. (A) Voltamogramas de onda quadrada obtidos após: (a) branco, (b) adição de 50 μL da amostra de mel, (c-g) adições sucessivas de 100 μL da solução padrão de EPT 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$. B) Curva de adição de padrão para amostra de mel e curva de calibração. Condições experimentais: $f = 70 \text{ Hz}$, $a = 60 \text{ mV}$, $\Delta E_s = 3 \text{ mV}$, tampão Britton-Robinson 0,1 mol L^{-1} (pH 4,0), pré-concentração: $E_{pc} = -0,2 \text{ V}$, $t_{pc} = 60 \text{ s}$.



Semelhante a PDM, o EPT também foi determinado por UV-vis. Os resultados das quantificações realizadas pelos dois métodos são mostrados na Tabela 9.

Como pode ser visto, os valores obtidos para a determinação de EPT em alface e mel usando o método voltamétrico e o método comparativo foram bastante próximos dos valores da amostra real (amostra simulada). Os DPR obtidos foram baixos, demonstrando a precisão dos dados obtidos. Os erros relativos foram menores que 1,25% confirmando a exatidão dos dois métodos e todos os valores de t e F obtidos foram menores que os valores teóricos, indicando a boa precisão

do método desenvolvido. Por fim, a Tabela 10 exhibe os dados referentes aos ensaios de recuperação do EPT em ambas as amostras. Os valores ficaram próximos de 100%. Mais uma vez, esse conjunto de estudos confirmam uma boa exatidão e precisão do método voltamétrico, utilizando o nAg-quitosana/GCE.

Tabela 9. Determinação do EPT em alface e mel.

Amostra	Alface		Mel	
Método	UV-vis	nAg-quitosana/GCE	UV-vis	nAg-quitosana/GCE
Valor real ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	400	400	400	400
Valor encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$) ^a	405	403	400	402
DPR (%) ^b	1,26	1,13	0,41	0,20
E _{r1} (%) ^b	1,25	0,75	0	0,5
E _{r2} (%) ^c	-----	-0,49	----	0,5
t _{valor} ^d	1,70	1,14	0	4,25
F _{valor} ^e	1,26	1,26	3,99	3,99

^a $n = 3$.

^b E_{r1} = Erro relativo entre a técnica voltamétrica utilizando o sensor nAg-quitosana/GCE ou a técnica UV-vis e o valor real.

^c E_{r2} = Erro relativo entre o sensor nAg-quitosana/GCE e a técnica de UV-vis.

^d $t_{\text{teórico}} = 4,30$.

^e $F_{\text{teórico}} = 19$.

Tabela 10. Estudos de recuperação pelo método de adição de padrão nas amostras de alface e mel.

Amostra	Valor adicionado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Valor encontrado ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Valor recuperado (%)
Alface	0,662	0,649	98
	1,307	1,303	100
	1,935	1,897	98
	2,548	2,520	99
	3,144	3,176	101
	0,332	0,332	100
Mel	0,660	0,640	97
	0,984	0,995	101,2
	1,303	1,259	96,7
	1,618	1,622	100,3

CAPÍTULO 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesse trabalho foi mostrado a aplicabilidade de um GCE modificado com AgNPs estabilizadas em quitosana na determinação eletroanalítica de compostos que apresentam grupo nitro, foram eles: 4-NF, PDM e o EPT.

As NPs sintetizadas foram caracterizadas por UV-vis e TEM e tiveram um diâmetro de 3,4 nm.

A superfície do eletrodo modificado foi caracterizado por SEM-FEG e EIS e demonstrou a ocorrência da modificação da superfície.

Comprovou-se a atividade catalítica das AgNPs na resposta do eletrodo pelo bom desempenho do sensor (nAg-quitosana/GCE) na redução do 4-NF, o qual apresentou um LD de $0,070 \mu\text{mol L}^{-1}$.

Comparado ao GCE sem modificação, foi evidenciado que o novo sensor aumentou os valores de corrente e deslocou o potencial de redução para valores menos negativos, para os três compostos (4-NF, PDM e EP).

Para o desenvolvimento da metodologia para determinação de PDM e EP, a SWV mostrou-se a técnica mais sensível e, por isso, foi escolhida. Utilizou-se tampão Britton-Robinson $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ (pH 4,0) como eletrólito suporte para os dois pesticidas. A resposta de corrente de redução foi linear com o aumento da concentração na faixa de $0,07$ a $2,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ (com um LD de $0,039 \mu\text{mol L}^{-1}$) para a PDM e $0,04$ a $8,00 \mu\text{mol L}^{-1}$ (com um LD de $0,04 \mu\text{mol L}^{-1}$) para o EPT. Posteriormente, o sensor nAg-quitosana/GCE foi utilizado para a determinação de PDM em amostras de água e EPT em amostras de alface e mel. A exatidão na determinação de ambos os pesticidas nas amostras foi comprovada por ótimos resultados nos ensaios de recuperação e também pela comparação com os resultados obtidos pelo método de UV-vis.

O mecanismo de redução dos três nitrocompostos foi investigado por CV. A variação da velocidade de varredura, nos trouxe informações concordantes com a literatura, sobre o número de elétrons envolvidos na redução do grupo nitro a hidroxilamina.

Ante aos resultados apresentados podemos concluir que a modificação da superfície do GCE com a dispersão de AgNPs e quitosana melhorou a sensibilidade aos compostos com grupo nitro.

Além de ser preparado de forma simples, o sensor obtido exibiu uma excelente performance no desenvolvimento do método mostrando ser promissor para análise de pesticidas em diferentes tipos de amostras.

CAPÍTULO 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINHO, S. M. L.; VILLAMIL R. F.V.; NETO, A. A.; ARANHA, H. O eletrólito suporte e suas múltiplas funções em processos de eletrodo. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 813–817, 2004.

AMIRI, M.; GHAFARI, S.; BEZAATPOUR, A.; MARKEN, F. Carbon nanoparticle-chitosan composite electrode with anion, cation, and neutral binding sites: Dihydroxybenzene selectivity. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 162, n. 1, p. 194–200, 2012.

ANTUNES, F. S.; DAL´ACQUA, N.; BERGMANN, C. P.; GIOVANELA, M. Síntese, caracterização e aplicação de nanopartículas de prata como agentes antimicrobianos. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 1, p. 20–26, 2013.

ARULRAJ, A. D.; VIJAYAN, M.; VASANTHA, V. S. Highly selective and sensitive simple sensor based on electrochemically treated nano polypyrrole-sodium dodecyl sulphate film for the detection of para-nitrophenol. **Analytica Chimica Acta**, v. 899, p. 66–74, 2015.

BACCARIN, M. JANEGITZ, B. C.; BERTÉ, R.; VICENTINI, F.C.; BANKS, C.E.; FATIBELLO-FILHO, O.; ZUCOLOTTI, V. Direct electrochemistry of hemoglobin and biosensing for hydrogen peroxide using a film containing silver nanoparticles and poly(amidoamine) dendrimer. **Materials Science and Engineering: C**, v. 58, p. 97–102, 2016.

BAIRD, C.; CANN, M. Química ambiental. 4 Ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.

BARD, A.; FAULKNER, L. R. **Electrochemical methods: fundamental and applications**. 2 Ed. New York: John Wiley & Sons Inc, 2001.

BEAUCHAMP, R. O.; IRONS, R. D.; RICKERT, D. E.; COUCH, D. B.; HAMM, T. E.; LYON, J. P. A Critical Review of the Literature on Nitrobenzene Toxicity. **CRC Critical Reviews in Toxicology**, v. 11, n. 1, p. 33–84, 1982.

BELLOLI, R.; BARLETTA, B.; BOLZACCHINI, E.; MEINARDI, S.; ORLANDI, M.; RINDONE, B. Determination of toxic nitrophenols in the atmosphere by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 846, n. 1–2, p. 277–281, 1999.

BIAN, Y.; LI, C.; LI, H. para-Sulfonatocalix[6]arene-modified silver nanoparticles electrodeposited on glassy carbon electrode: Preparation and electrochemical sensing of methyl parathion. **Talanta**, v. 81, n. 3, p. 1028–1033, 2010.

BÖNNEMANN, H.; BRIJOUX, G. B. W.; BRINKMANN, R.; TILLING, A.S.; SEEVOGEL, K.; SIEPEN, K. Nanoscale colloidal metals and alloys stabilized by solvents and surfactants Preparation and use as catalyst precursors. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 520, p. 143–162, 1996.

COX, J. A.; TESS, M. E.; CUMMINGS, T. E. Electroanalytical methods based on modified electrodes: A review of recent advances. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 15, p. 173–224, 1996

CUI, P.; HE, H.; CHEN, D.; LI, C.; CHEN, H.; LIU, H.; ZHANG, S.; YANG, J. Effect of ionic liquid on the synthesis and electrocatalytic property of platinum-based bimetallic nanoparticles. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 482, p. 386–393, 2015.

DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. Voltametria de onda quadrada. Primeira parte: Aspectos teóricos. **Química Nova**, v. 26, n. 1, p. 81–89, 2003.

DEHDASHTIAN, S.; GHOLIVAND, M. B.; SHAMSIPUR, M.; KARIMINIA, S.; Construction of a sensitive and selective sensor for morphine using chitosan coated Fe_3O_4 magnetic nanoparticle as a modifier. **Materials Science and Engineering: C**, v. 58, p. 53–59, 2016.

DENG, P.; XU, Z.; FENG, Y.; LI, J. Electrocatalytic reduction and determination of p-nitrophenol on acetylene black paste electrode coated

with salicylaldehyde-modified chitosan. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 168, p. 381–389, 2012.

DIMITROV, B. D.; GADEVA, P.G.; BENOVA, D. K.; BINEVA, M. V. Comparative genotoxicity of the herbicides Roundup, Stomp and Reglone in plant and mammalian test systems. **Mutagenesis**, v. 21, n. 6, p. 375–382, 2006.

FENOLL, J.; HELLÍN, P.; MARTÍNEZ, C. M.; MIGUEL, M.; FLORES, P. Multiresidue method for analysis of pesticides in pepper and tomato by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. **Food Chemistry**, v. 105, p. 711–719, 2007.

FRATTINI, A.; PELLEGGRI, N.; NICASTRO, D.; SANCTIS, O. D. Effect of amine groups in the synthesis of Ag nanoparticles using aminosilanes. **Materials Chemistry and Physics**, v. 94, p. 148–152, 2005.

FU, X.-C.; ZHANG, J.; TAO, Y.-Y.; WU, J.; XIE, C.-G.; KONG, L.-T. Three-dimensional mono-6-thio- β -cyclodextrin covalently functionalized gold nanoparticle/single-wall carbon nanotube hybrids for highly sensitive and selective electrochemical determination of methyl parathion. **Electrochimica Acta**, v. 153, p. 12–18, 2015.

GALLI, A.; DE SOUZA, D.; MACHADO, S. A S. Pendimethalin determination in natural water, baby food and river sediment samples using electroanalytical methods. **Microchemical Journal**, v. 98, n. 1, p. 135–143, 2011.

GERENT, G. G.; GONÇALVES, C. Q.; DA SILVA, P. S.; SPINELLI, A. In situ bismuth-film electrode for square-wave cathodic voltammetric detection of pendimethalin at nanomolar level. **Electrochimica Acta**, v. 168, p. 379–385, 2015.

GUIBAL, E. Heterogeneous catalysis on chitosan-based materials: a review. **Progress in Polymer Science**, v. 30, p. 71–109, 2005.

GUO, T.-Y.; XIA, Y.-Q.; WANG, J.; SONG, M.-D.; ZHANG, B.-H. Chitosan beads as molecularly imprinted polymer matrix for selective separation of proteins. **Biomaterials**, v. 26, p. 5737–5745, 2005.

GUO, X.; ZHOU, H.; FAN, T.; ZHANG, D. Electrochemical detection of p-nitrophenol on surface imprinted gold with lamellar-ridge architecture. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 220, p. 33–39, 2015.

GUO, X.; WANG, Z.; ZHOU, S. The separation and determination of nitrophenol isomers by high-performance capillary zone electrophoresis. **Talanta**, v. 64, n. 1, p. 135–139, 2004.

GUO, Y.; SUN, X.; LIU, Y.; WANG, W.; QIU, H.; GAO, J. One pot preparation of reduced graphene oxide (RGO) or Au (Ag) nanoparticle-RGO hybrids using chitosan as a reducing and stabilizing agent and their use in methanol electrooxidation. **Carbon**, v. 50, n. 7, p. 2513–2523, 2012.

HEGEDUS, G.; BÉLAI, I.; SZÉKÁCS, A. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the herbicide trifluralin. **Analytica Chimica Acta**, v. 421, p. 121–133, 2000.

HONEYCHURCH, K. C.; HART, J. P. Voltammetric Behavior of p-Nitrophenol and Its Trace Determination in Human Urine by Liquid Chromatography with a Dual Reductive Mode Electrochemical Detection System. **Electroanalysis**, v. 19, n. 21, p. 2176–2184, 2007.

HUANG, Y.; CHENG, C.; TIAN, X.; ZHENG, B.; LI, Y.; YUAN, H.; XIAO, D.; CHOI, M. M. F. Low-potential amperometric detection of dopamine based on MnO₂ nanowires/chitosan modified gold electrode. **Electrochimica Acta**, v. 89, p. 832–839, 2013.

JIANG, L.; HU, J.; FOORD, J. S. Electroanalysis of Hydrogen Peroxide at Boron Doped Diamond Electrode Modified by Silver Nanoparticles and Hemoglobin. **Electrochimica Acta**, v. 176, p. 488–496, 2015.

JIN, H.; LIU, Y.; WEI, M. Determination of organophosphorus pesticides based on BDD electrode modified with Au/chitosan fiber. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 60, p. 297–302, 2013.

JUSTI, K. C.; LARANJEIRA, M. C. M.; NEVES, A.; MANGRICH, A. S.; FÁVERE, V. T. Chitosan functionalized with 2[-bis-(pyridylmethyl) aminomethyl]4-methyl-6- formyl-phenol: Equilibrium and kinetics of copper (II) adsorption. **Polymer**, v. 45, p. 6285–6290, 2004.

KARADAS, N.; BOZAL-PALABIYIK, B.; USLU, B.; OZKAN, S. Functionalized carbon nanotubes—With silver nanoparticles to fabricate a sensor for the determination of zolmitriptan in its dosage forms and biological samples. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 186, p. 486–494, 2013.

KUMAR, P.; KIM, K.-H.; DEEP, A. Recent advancements in sensing techniques based on functional materials for organophosphate pesticides. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 70, p. 469–481, 2015.

KUMARAVEL, A.; CHANDRASEKARAN, M. A novel nanosilver/nafion composite electrode for electrochemical sensing of methyl parathion and parathion. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 638, n. 2, p. 231–235, 2010.

LI, J.-W.; WANG, Y.-L.; YAN, S. LI, X.-J.; PAN, S.-Y. Molecularly imprinted calixarene fiber for solid-phase microextraction of four organophosphorous pesticides in fruits. **Food Chemistry**, v. 192, p. 260–267, 2016.

LI, X.; LIU, Y.; ZHENG, L.; DONG, M.; XUE, Z.; LU, X.; LIU, X. A novel nonenzymatic hydrogen peroxide sensor based on silver nanoparticles and ionic liquid functionalized multiwalled carbon nanotube composite modified electrode. **Electrochimica Acta**, v. 113, p. 170–175, 2013.

LI, Y.; XU, M.; LI, P.; DONG, J.; AI, S. Nonenzymatic sensing of methyl parathion based on graphene/gadolinium Prussian Blue analogue nanocomposite modified glassy carbon electrode. **Analytical Methods**, v. 6, p. 2157–2162, 2014.

LIAN, W.; LIU, S.; YU, J.; LI, J.; CUI, M.; XU, W.; HUANG, J. Biosensors and Bioelectronics Electrochemical sensor using neomycin-imprinted film as recognition element based on chitosan-silver nanoparticles/graphene-multiwalled carbon nanotubes composites modified electrode. **Biosensors and Bioelectronic**, v. 44, p. 70–76, 2013.

LIAO, K; MAO, P.; LI, Y.; NAN, Y.; SONG, F.; WANG, G.; HAN, M. A promising method for fabricating Ag nanoparticle modified nonenzyme hydrogen peroxide sensors. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 181, p. 125–129, 2013.

LIN, J.; HE, C.; ZHAO, Y.; ZHANG, S. One-step synthesis of silver nanoparticles/carbon nanotubes/chitosan film and its application in glucose biosensor. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 137, p. 768–773, 2009.

LIU, G.; GUO, W.; YIN, Z. Covalent fabrication of methyl parathion hydrolase on gold nanoparticles modified carbon substrates for designing a methyl parathion biosensor. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 53, p. 440–446, 2014.

MANSOURIMAJD, S.; TEYMOURIAN, H.; SALIMI, A.; HALLAJ, R. Fabrication of electrochemical theophylline sensor based on manganese oxide nanoparticles/ionic liquid/chitosan nanocomposite modified glassy carbon electrode. **Electrochimica Acta**, v. 108, p. 707–716, 2013.

MARTÍNEZ-UROZ, M. A.; MEZCUA, M.; VALLES, N. B.; FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. Determination of selected pesticides by GC with simultaneous detection by MS (NCI) and μ -ECD in fruit and vegetable matrices. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 402, p. 1365–1372, 2012.

MELO, M. A.; SANTOS, L. S. S.; GONÇALVES, M. C.; NOGUEIRA, A. F. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: Um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova**, v. 35, n. 9, p. 1872–1878, 2012.

MIRÓ, M.; CLADERA, A.; ESTELA, J. M.; CERDÀ, V. Dual wetting-film multi-syringe flow injection analysis extraction: Application to the simultaneous determination of nitrophenols. **Analytica Chimica Acta**, v. 438, n. 1–2, p. 103–116, 2001.

MOHAN, R.; SANKARRAJAN, S.; THIRUPPATHI, G. Spectrochimica Acta Part A : Molecular and Biomolecular Spectroscopy Structural and optical studies of pHEMA encapsulated ZnS: Ni²⁺ nanoparticles. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and biomolecular spectroscopy**, v. 146, p. 7–12, 2015.

MORADI GOLSHEIKH, A; HUANG, N. M.; LIM, H. N.; ZAKARIA, R.; YIN, C. Y. One-step electrodeposition synthesis of silver-nanoparticle-decorated graphene on indium-tin-oxide for enzymeless hydrogen peroxide detection. **Carbon**, v. 62, p. 405–412, 2013.

OLIVEIRA, R.M.; SANTOS, N. G.; ALVES, L. A.; LIMA, K. C. M. S.; KUBOTA, L. T.; DAMOS, F. S.; LUZ, R. C. S. Highly sensitive p-nitrophenol determination employing a new sensor based on N - Methylphenazonium methyl sulfate and graphene: Analysis in natural and treated waters. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 221, p. 740–749, 2015.

MULFINGER, L.; SOLOMON, S. D.; BAHADORY, M.; JEYARAJASINGAM, A. V.; RUTKOWSKY, S. A.; BORITZ, C. Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. **Journal of Chemical Education**, v. 84, n. 2, p. 322–325, 2007.

NANTAPHOL, S.; CHAILAPAKUL, O.; SIANGPROH, W. Sensitive and selective electrochemical sensor using silver nanoparticles modified glassy carbon electrode for determination of cholesterol in bovine serum. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 207, p. 193–198, 2015a.

NANTAPHOL, S.; CHAILAPAKUL, O.; SIANGPROH, W. A novel paper-based device coupled with a silver nanoparticle-modified boron-doped diamond electrode for cholesterol detection. **Analytica Chimica Acta**, v. 891, p. 136–143, 2015b.

NCUBE, P.; HLABATHE, T.; MEIJBOOM, R. The preparation of well-defined dendrimer-encapsulated palladium and platinum nanoparticles and their catalytic evaluation in the oxidation of morin. **Applied Surface Science**, v. 357, p. 1141–1149, 2015.

NDLOVU, T; AROTIBA, O. A.; KRAUSE, R. W.; MAMBA, B. B.; Electrochemical Detection of o-Nitrophenol on a Poly (propyleneimine)-gold Nanocomposite Modified Glassy Carbon Electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, v. 5, p. 1179 – 1186, 2010.

NI, Y.; WANG, L.; KOKOT, S. Simultaneous determination of three herbicides by differential pulse voltammetry and chemometrics. **Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes**, v. 46, p. 328–335, 2011.

NIAZI, A.; YAZDANIPOUR, A. Spectrophotometric simultaneous determination of nitrophenol isomers by orthogonal signal correction and partial least squares. **Journal of Hazardous Materials**, v. 146, n. 1–2, p. 421–427, 2007.

NIETO-GARCÍA, A. J.; ROMERO-GONZÁLEZ, R.; GARRIDO FRENICH, A. Multi-pesticide residue analysis in nutraceuticals from grape seed extracts by gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. **Food Control**, v. 47, p. 369–380, 2015.

NOROUZI, P.; GUPTA, V. K.; ASIF, M.; RASOOLIPOUR, S.; FARIDBOD, F.; GANJALI, M. R. et al. Determination of methyl parathion in liquid phase by nano-composite carbon paste surface biosensor and differential FFT continuous linear sweep voltammetry. **Journal of Molecular Liquids**, v. 198, p. 239–245, 2014.

PANACEK, A.; KVÍTEK, L.; PRUCEK, R.; KOLAR M.; VECEROVA, R.; PIZUROVA, N.; SHARMA, V.K.; NEVECNA. T.; ZBORIL. R. Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity. **The Journal of Physical Chemistry B**, v.110, p.16248–16253, 2006.

PAPADOPOULOU-MOURKIDOU, E.; PATSIAS, J. Development of a semi-automated high-performance liquid chromatographic-diode array detection system for screening pesticides at trace levels in aquatic systems of the Axios River basin. **Journal of Chromatography A**, v. 726, p. 99–113, 1996.

PEREIRA, A. C.; SANTOS, A. D. S.; KUBOTA, L. T. Tendências em modificação de eletrodos amperométricos para aplicações eletroanalíticas. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 1012–1021, 2002.

PERRY, D. A.; SON, H. J.; CORDOVA, J. S.; SMITH, L.G.; BIRIS, A. Adsorption analysis of nitrophenol isomers on silver nanostructures by surface-enhanced spectroscopy. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 342, n. 2, p. 311–319, 2010.

PIFFERI, V.; FACCHINETTI, G.; VILLA, A.; PRATI, L.; FALCIOLA, L. Electrocatalytic activity of multiwalled carbon nanotubes decorated by silver nanoparticles for the detection of halothane. **Catalysis Today**, v. 249, p. 265–269, 2015.

PILLAI, C. K. S.; PAUL, W.; SHARMA, C. P. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. **Progress in Polymer Science**, v. 34, p. 641–678, 2009.

PRAKASH, S.; CHAKRABARTY, T.; SINGH, A. K.; SHAHI, V. K. Silver nanoparticles built-in chitosan modified glassy carbon electrode for anodic stripping analysis of As (III) and its removal from water. **Electrochimica Acta**, v. 72, p. 157–164, 2012.

QU, Y.; MIN, H.; WEI, Y.; XIAO, F.; SHI, G.; LI, X.; JIN, L. Au-TiO₂/Chit modified sensor for electrochemical detection of trace organophosphates insecticides. **Talanta**, v. 76, p. 758–762, 2008.

RAMIREZ, E.; JANSAT, S.; PHILIPPOT, K.; LECANTE, P.; GOMEZ, M.; MASDEU-BULTÓ, A. M.; CHAUDRET, B. Influence of organic ligands on the stabilization of palladium nanoparticles. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 689, p. 4601–4610, 2004.

REDDYPRASAD, P.; NAIDOO, E. B.; SREEDHAR, N. Y. Electrochemical preparation of a novel type of C-dots/ZrO₂ nanocomposite onto glassy carbon electrode for detection of organophosphorus pesticide. **Arabian Journal of Chemistry**, 2015.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RINAUDO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. **Prog. Polym. Sci.**, v. 31, p. 603–632, 2006.

SANGHAVI, B. J.; MOBIN, S. M.; MATHUR, P.; LAHIRI, G. K.; SRIVASTAVA, A. K. Biomimetic sensor for certain catecholamines employing copper(II) complex and silver nanoparticle modified glassy carbon paste electrode. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 39, n. 1, p. 124–132, 2013.

SEEBUNRUENG, K.; SANTALADCHAIYAKIT, Y.; SRIJARANAI, S. Vortex-assisted low density solvent based demulsified dispersive liquid-liquid microextraction and high-performance liquid chromatography for the determination of organophosphorus pesticides in water samples. **Chemosphere**, v. 103, p. 51–58, 2014.

SHAH, J.; RASUL JAN, M.; SHEHZAD, F. U. N.; ARA, B. Quantification of pendimethalin in soil and garlic samples by microwave-assisted solvent extraction and HPLC method. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 175, p. 103–108, 2011.

SILVA, P. S.; GASPARINI, B. C.; MAGOSSO, H. A.; SPINELLI, A. Gold nanoparticles hosted in a water-soluble silsesquioxane polymer applied as a catalytic material onto an electrochemical sensor for

detection of nitrophenol isomers. **Journal of Hazardous Materials**, v. 273, p. 70–77, 2014.

SINGH, J.; SRIVASTAVA, M.; KALITA, P. MALHOTRA, B. D. A novel ternary $\text{NiFe}_2\text{O}_4/\text{CuO}/\text{FeO}$ -chitosan nanocomposite as a cholesterol biosensor. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 12, p. 2189–2198, 2012.

SONG, W.; LI, H.; LIU, H.; WU, Z.; QIANG, W.; XU, D. Fabrication of streptavidin functionalized silver nanoparticle decorated graphene and its application in disposable electrochemical sensor for immunoglobulin e. **Electrochemistry Communications**, v. 31, p. 16–19, 2013.

TANG, T.; DENG, J.; ZHANG, M.; SHI, G.; ZHOU, T. Quantum dot-DNA aptamer conjugates coupled with capillary electrophoresis: A universal strategy for ratiometric detection of organophosphorus pesticides. **Talanta**, p. TALD1501417, 2015.

TSIGOS, I.; MARTINOU, A.; KAFETZOPOULOS, D.; BOURIOTIS, V. Chitin deacetylases: New, versatile tools in biotechnology. **Trends in Biotechnology**, v. 18, n. 1999, p. 305–312, 2000.

WANG, L.; ZHU, H.; SONG, Y.; LIU, L. HE, Z.; WAN, L.; CHEN, S.; XIANG, Y.; CHEN, S.; CHEN, J. Architecture of poly(o-phenylenediamine)-Ag nanoparticle composites for a hydrogen peroxide sensor. **Electrochimica Acta**, v. 60, p. 314–320, 2012.

WANG, P.; XIAO, J.; LIAO, A.; LI, P.; GUO, M.; XIA, Y.; LI, Z.; JIANG, X. HUANG, W. Electrochemical determination of 4-nitrophenol using uniform nanoparticle film electrode of glass carbon fabricated facilely by square wave potential pulses. **Electrochimica Acta**, v. 176, p. 448–455, 2015.

WANG, X.; WU, M.; TANG, W.; ZHU, Y.; WANG, L.; WANG, Q.; HE, P.; FANG, Y. Simultaneous electrochemical determination of ascorbic acid, dopamine and uric acid using a palladium nanoparticle/graphene/chitosan modified electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 695, p. 10–16, 2013.

WEI, T.; HUANG, X.; ZENG, Q.; WANG, L. Simultaneous electrochemical determination of nitrophenol isomers with the polyfurfural film modified glassy carbon electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 743, p. 105–111, 2015.

WU, B.; HOU, L.; DU, M.; ZHANG, T.; WANG, Z.; XUE, Z.; LU, X. A molecularly imprinted electrochemical enzymeless sensor based on functionalized gold nanoparticle decorated carbon nanotubes for methyl-parathion detection. **RSC Adv.**, v. 4, p. 53701–53710, 2014.

XIANG, C.; LI, R.; ADHIKARI, B.; SHE, Z.; LI, Y.; KRAATZ, H.-B. Sensitive electrochemical detection of Salmonella with chitosan–gold nanoparticles composite film. **Talanta**, v. 140, p. 122–127, 2015.

XUE, X.; WEI, Q.; WU, D.; LI, H.; ZHANG, Y.; FENG, R.; DU, B. Determination of methyl parathion by a molecularly imprinted sensor based on nitrogen doped graphene sheets. **Electrochimica Acta**, v. 116, p. 366–371, 2014.

YANG, S.; LUO, S.; LIU, C.; WEI, W. Direct synthesis of graphene-chitosan composite and its application as an enzymeless methyl parathion sensor. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 96, p. 75–79, 2012.

YAO, C.; SUN, H.; FU, H.-F.; TAN, Z.-C. Sensitive simultaneous determination of nitrophenol isomers at poly(p-aminobenzene sulfonic acid) film modified graphite electrode. **Electrochimica Acta**, v. 156, p. 163–170, 2015.

YAO, Y.; ZHANG, L.; XU, J.; WANG, X.; DUAN, X.; WEN, Y. Rapid and sensitive stripping voltammetric analysis of methyl parathion in vegetable samples at carboxylic acid-functionalized SWCNTs- β -cyclodextrin modified electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 713, p. 1–8, 2014.

YAZHEN, W.; HONGXIN, Q.; SIQIAN, H.; JUNHUI, X. A novel methyl parathion electrochemical sensor based on acetylene black-chitosan composite film modified electrode. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 147, n. 2, p. 587–592, 2010.

YIN, H.; CUI, L.; CHEN, Q.; SHI, W.; AI, S.; ZHU, L.; LU, L. Amperometric determination of bisphenol A in milk using PAMAM- Fe_3O_4 modified glassy carbon electrode. **Food Chemistry**, v. 125, n. 3, p. 1097–1103, 2011.

YU, L.; YUE, X.; YANG, R.; JING, S.; QU, L. A sensitive and low toxicity electrochemical sensor for 2, 4-dichlorophenol based on the nanocomposite of carbon dots, hexadecyltrimethyl ammonium bromide and chitosan. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 2015.

YU, R.; LIU, Q.; LIU, J.; WANG, Q.; WANG, Y. Concentrations of organophosphorus pesticides in fresh vegetables and related human health risk assessment in Changchun, Northeast China. **Food Control**, v. 60, p. 353–360, 2016.

ZENG, K.; YANG, T.; ZHONG, P.; ZHOU, S.; QU, L.; HE, J.; JIANG, Z. Development of an indirect competitive immunoassay for parathion in vegetables. **Food Chemistry**, v. 102, p. 1076–1082, 2007.

ZHOU, Y.; YIN, H.; MENG, X.; XU, Z.; FU, Y. Electrochimica Acta Direct electrochemistry of sarcosine oxidase on graphene , chitosan and silver nanoparticles modified glassy carbon electrode and its biosensing for hydrogen peroxide. **Electrochimica Acta**, v. 71, p. 294–301, 2012.

ZHU, W.; LIU, W.; LI, T.; YUE, X.; LIU, T.; ZHANG, W.; YU, S.; ZHANG, D.; WANG, J. Facile green synthesis of graphene-Au nanorod nanoassembly for on-line extraction and sensitive stripping analysis of methyl parathion. **Electrochimica Acta**, v. 146, p. 419–428, 2014.